

Monika M. Arndt

Typendifferenzierung
und myometrische Analyse von Muskelfasern
der äußeren Augenmuskulatur des Menschen
mit Hilfe histochemischer Färbemethoden

Diss. München
1983



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0041

Aus der Neurologischen Klinik der Universität
München

Direktor: Prof. Dr. med. A. Schrader

Typendifferenzierung und myometrische Analyse
von Muskelfasern der äußeren Augenmuskulatur
des Menschen mit Hilfe histochemischer Färbemethoden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Monika M. Arndt

aus
München

1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. A. Schrader

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. A. Schrader

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen

Prüfung: 15.12.1983

Meinen Eltern

A b s t r a c t

ARNDT, MONIKA:

TYPENDIFFERENZIERUNG UND MYOMETRISCHE ANALYSE VON MUSKELFASERN DER ÄUSSEREN AUGENMUSKULATUR DES MENSCHEN MIT HILFE HISTOCHEMISCHER FÄRBEMETHODEN

Zur Darstellung der Fasertypen und Ermittlung der Faserdurchmesser der äußeren Augenmuskeln werden an Mm.rect.int. von Schielpatienten sowie an Mm.obliqui enzymhistochemische Verfahren und myometrische Methoden durchgeführt, wie sie bei der Diagnostik von Erkrankungen des Extremitätenmuskels Anwendung finden.

Zur Charakterisierung der Fasertypen wird die histochemische Reaktion der myofibrillären ATPase und die pH-Empfindlichkeit dieser Reaktion herangezogen. 15 - 29 % aller Muskelfasern zeigen im sauren Milieu (pH 4,35) eine hohe, im alkalischen Bereich (pH 9,4 bzw. 10,4) eine niedrige Enzymaktivität. Dieses Färbeprofil kennzeichnet sie als Typ I-Fasern. Reziprok dazu färben sich Typ II-Fasern (71 - 85 %) im alkalischen Medium intensiv, im sauren schwach. Signifikante Unterschiede in der prozentualen Fasertypenverteilung zwischen Recti und Obliqui lassen sich nicht nachweisen (t-Test, $p=0,05$).

Die Faserdurchmesseranalyse, die auf dem Meßprinzip der Erfassung des größten, auf dem Längsdurchmesser senkrecht stehenden Querdurchmessers beruht, ergibt für die Typ I-Fasern in Recti und Obliqui mittlere Fasergrößen von 12 - 16 μm , für die Typ II-Fasern 13 - 15 μm , wobei die Faserstärken von 3 - 39 μm variieren. Die Stärken der Typ I- und Typ II-Fasern im M.obl.inf. unterscheiden sich nicht signifikant, während im M.rect.int. die Typ I-Fasern signifikant größere Durchmesser aufweisen als die Typ II-Fasern (t-Test, $p=0,05$).

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist der Wahl der Schnittebene, dem zonalen Aufbau und der besonderen Faserarchitektonik im Augenmuskel Rechnung zu tragen.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. MATERIAL UND METHODE	7
1. Materialgewinnung	7
2. Materialselektion	9
3. Materialaufbereitung	11
4. Färbungen	12
4.1. Histologische Färbung	12
4.2. Histochemische Färbungen	12
4.2.1. Prinzip der histochemischen Arbeitsweise	13
4.2.2. Darstellung der ATPase-Aktivität in der Muskelfaser	16
4.2.2.1. Histochemische Reaktionsabläufe	16
4.2.2.2. Färbeprozedur	17
4.2.2.2.1. Routine-ATPase-Reaktion	17
4.2.2.2.2. m-ATPase-Reaktion mit Vorinkubation	18
5. Dokumentation	21
6. Methode der Faserquerschnittsbestimmung	22
7. Quantitative Bildauswertung	25

	Seite
III. ERGEBNISSE	27
1. Aufbau des Augenmuskels - Histo- logische Beobachtungen	27
2. Histochemische Faserklassifizierung	34
3. Myometrische Analyse	40
3.1. M.rectus internus	41
3.2. M.obliquus inferior	61
3.3. M.obliquus superior	71
IV. DISKUSSION	74
1. Materialwahl	74
2. Wahl der Schnittebene	76
3. Histologische Beobachtungen	80
4. Histochemische Faserdifferenzierung	83
5. Myometrische Analyse	93
5.1. Beurteilung der prozentua- len Fasertypenverteilung	93
5.2. Beurteilung der Faserquer- schnittsgröße	95
6. Klinische Relevanz der histochemischen Augenmuskeldiagnostik	106
V. ZUSAMMENFASSUNG	112
VI. LITERATUR	115

I. Einleitung

Die extraokulären Muskeln (EOM) der Säugetiere nehmen unter den quergestreiften Muskeln eine seit langem bekannte Sonderstellung ein. Schon vor mehr als hundert Jahren widmeten sich VOLKMANN und KRAUSE (44) der Faserdickenmessung an der Augenmuskulatur. 1893 und 1898 folgten quantitative Strukturuntersuchungen von HALBAN (14) und SCHNELLER (41). KATO (24) beschrieb 1938 das Vorkommen peripherer dünner und axialer dicker Fasern im Muskelquerschnitt. 1931 vermutete WOOLLARD (46), daß sich bezüglich der Dicke drei Arten von Muskelfasern unterscheiden lassen.

Mit der Verbesserung der Untersuchungsmethoden waren die EOM immer häufiger Thema wissenschaftlicher Abhandlungen, wobei die Typendifferenzierung der Muskelfasern in den Mittelpunkt des Interesses rückte.

Für die Klassifizierung wurde von den Autoren eine Reihe verschiedener Merkmale herangezogen:

- das lichtmikroskopische Erscheinungsbild
- die elektronenmikroskopische Feinstruktur
- die enzymatische Faserausstattung
- das Innervationsmuster
- die kontraktile Eigenschaften u.a.m.

Ein Unterscheidungskriterium, das auch in neueren Arbeiten immer wieder zum Vergleich herangezogen wird, stammt von KRÜGER (25), der aufgrund der unterschiedlichen Myofibrillenanzordnung Fasern vom Fibrillenstruktur-Typ und Felderstruktur-Typ trennt. Diese Erscheinungsbilder beruhen darauf, daß im ersten Fall die einzelnen Myofibrillen vollständig vom sarkoplasmatischen Retikulum umgeben sind, während die Felderstruktur durch Zusammenlagerung von Myofibrillen entsteht.

Ebenfalls unter dem morphologischen Gesichtspunkt definieren DURSTON (12) und RINGEL et al. (39) aufgrund des unterschiedlichen retikulären Strukturbildes einzelner Fasern in herkömmlichen histologischen Färbungen die Gruppen "coarse", "fine" und "granular". Ähnlich unterscheidet MAYR (31) morphologisch "clear", "dark", "pale" und "intermediate" Fasern.

HESS (18) gelang es 1961 als erstem, an isolierten, mit einer Cholinesterasefärbung präparierten Fasern Nervenendigungen darzustellen und konnte so zwei Faserarten differenzieren: einfach und multipel innervierte. Die einfach innervierten Fasern nannte er "en plaque"-Typ, da sie eine große motorische Endplatte aufweisen, die der am Skelettmuskel gleicht.

Die multipel innervierten Fasern erhielten wegen ihrer traubenförmigen, über die ganze Faser verstreuten Nervenendigungen die Bezeichnung "en grappe"-Typ.

Im Anschluß daran wies HESS zusammen mit PILAR (19) die damit verbundenen kontraktile Eigenschaften nach (twitch, slow).

Auf drei funktionell unterschiedliche Typen ließen physiologische Studien von PEACHEY (38) schließen (fast-twitch, slow-twitch und slow-tonic).

BRANDT (6) setzte feinstrukturelle Merkmale den funktionellen Eigenschaften gegenüber:

Fibrillenstruktur-Typ	Felderstruktur-Typ
mitochondrienreich	mitochondrienarm
Sarkopl.Retikulum-reich	Sarkopl.Retikulum-arm
fast-phasic	slow-tonic

Verfeinerte Untersuchungsmethoden, wie sie die Entwicklung des Elektronenmikroskops mit sich brachte, eröffneten den Blick in die Feinstruktur der Muskelzelle mit neuen Aspekten der Differenzierungsmöglichkeiten.

BRANDT (6), PEACHEY (38), MAYR (31, 32) und ALVARADO und VAN HORN (3) vermuteten nach der Myofibrillengröße und -struktur, dem Mitochondriengehalt, der Menge an

sarkoplasmatischem Retikulum und dem Feinbau der Nervenendigungen zwei bis sechs verschiedene Fasertypen.

Meist traf man die Klassifizierung mit Hilfe einer Kombination von histochemischen, histologisch-metrischen und elektrophysiologischen Eigenschaften. So beschreibt HARKER (16) A-, C- und G-Fasern auf der Grundlage von histochemischen Profilen, Durchmesser und Innervationstypus.

Mit der Anwendung der Histochemie eröffnete sich eine Möglichkeit, Muskelfasern entsprechend ihrer enzymatischen Eigenschaften zu klassifizieren (26).

Verhältnismäßig wenige Autoren führen ausschließlich histochemische Merkmale als Einteilungskriterien an. Aufgrund der ATPase-Reaktion unterscheiden YELLIN (47) und HANSON et al. (15) drei Typen

- YELLIN: säure-stabil, alkali-stabil,
säure- + alkali-stabil
- HANSON et al.: I, II, IIC

Eine an die Nomenklatur der Skelettmuskeln angepasste histochemische Fasertypisierung erarbeiteten VITA et al. (43) und HOOGENRAAD et al. (21).

- VITA et al.: 1, 2a 2a'2a", 2b, 2c
- HOOGENRAAD et al.: I, IIA, IIB, IIC

ASMUSSEN et al. (4), die eine Reihe von innerhalb verschiedener Stoffwechselzyklen wirkenden Enzyme untersuchten, diskutierten sechs Fasertypen.

Dieser kurze literarische Streifzug zeigt deutlich, daß die im Laufe der Zeit entstandenen Nomenklatorsysteme so unterschiedlich sind wie die Untersuchungsmethoden, aus denen sie hervorgegangen sind.

Häufige, synonym gebrauchte Merkmalsbegriffe der beiden Hauptfasergruppen sollen in Tabelle 1 gegenübergestellt werden.

Tabelle 1

dünne Fasern	dicke Fasern
Felderstruktur-Typ	Fibrillenstruktur-Typ
"en grappe"-Typ	"en plaque"-Typ
multipel innerviert	einfach (single, focal) innerviert
slow	fast (twitch)
"tonic-fibers"	"phasic-fibers"

modifiziert nach MÜHLENDYCK (34)

Je mehr Fasertypen postuliert wurden, umso komplizierter und unübersichtlicher wurde die Klassifizierung. Für den Wissenschaftler mögen solche Feindifferenzierungen von großem Interesse sein. Der Kliniker wünscht sich eher ein praxisbezogenes, auf wenige Typen beschränktes Einteilungsprinzip. Ein Versuch in dieser Richtung soll in der vorliegenden Arbeit unternommen werden.

Es war unser Ziel, mit Hilfe des histochemischen Nachweises der myofibrillären ATPase eine vereinfachte, auf zwei Haupttypen basierende Einteilung der Muskelfasern aufzustellen und nach einem speziellen, bei Skelettmuskeln erprobten Meßverfahren die Fasergrößen zu bestimmen.

II. Material und Methode

1. Materialgewinnung

Während es schon eine Reihe von Veröffentlichungen über histochemische Augenmuskeluntersuchungen an verschiedenen Tierspezies gibt, liegen uns nur wenige Arbeiten vor, die die EOM des Menschen zum Gegenstand haben (Tabelle 2).

Tabelle 2

Autor		Spezies
YELLIN (47)	1969	Ratte
ASMUSSEN et al. (4)	1971	Katze, Kaninchen
MAYR (32)	1971	Ratte
HARKER (16)	1972	Schaf
MAIER et al. (28)	1972	Vögel
DURSTON (12)	1974	Pavian
HANSON et al. (15)	1980	Katze
VITA et al. (43)	1980	Ratte

Autor		Spezies
DURSTON (12)	1974	Mensch
JENNEKENS et al. (22)	1976	Mensch
RINGEL et al. (39)	1978	Mensch
HOOGENRAAD et al. (21)	1979	Mensch

Der Grund liegt darin, daß der menschliche Augenmuskel in vivo nur dann operativ angegangen wird, wenn Strabismus vorliegt, oder wenn wegen eines Malignoms, einer perforierenden Verletzung oder massiven Entzündung (Panophthalmie) das Auge enukleiert werden muß.

Bei Schieloperationen gewonnenes Muskelmaterial stammte aus bulbusnahen Abschnitten der EOM von 58 Patienten im Alter von 3 - 47 Jahren.

Bei Strabismus convergens (31 Fälle) fiel jeweils der ansatznahe Muskelabschnitt des M.rect.ext., bei Strabismus divergens (27 Fälle) der des M.rect.int. an. In Abhängigkeit von dem operativ zu korrigierenden Schielwinkel variierte die Länge der Muskelstückchen von 3 bis 8 mm (M.rect.ext.) bzw. 4 bis 10 mm (M.rect.int.).

Im Verlauf von E nukleationsoperationen (5 Fälle) wurden ansatznahe Muskelproben aus allen sechs EOM entnommen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß man sich wegen einer möglichst geringen Gefährdung des postoperativen Erfolges auf die Entnahme von sehr kleinen Proben beschränkte.

2. Materialselektion

Während 44 % der Mm-recti-interni-Proben der histochemischen Färbung unterzogen werden konnten, fanden wir in allen Mm.rect.ext. zu wenig Muskel- bzw. ausschließlich Sehngewebe.

Im Fall des E nukleationsmaterials enthielten nur die excidierten Stücke aus dem M.obl.inf. (4 Fälle) und der M.obl.sup. (1 Fall) ausreichend Muskelmaterial.

Die Ursache für die unterschiedlich gute Materialausbeute ist - neben den oben erwähnten Einschränkungen - in der Anatomie, insbesondere der Sehnenlänge der EOM, zu suchen.

Aus Tabelle 3 wird ersichtlich, daß aufgrund der längeren Sehnenstrecke des M.rect.ext. im Verhältnis zum

M.rect.int. in unseren maximal 8 mm großen Excisionsstückchen aus dem M.rect.ext. kein Muskelgewebe gefunden werden konnte.

Ganz andere anatomische Verhältnisse zeichnen den M.obl.inf. aus. Er besteht fast in seiner gesamten Länge aus Muskelgewebe und weist die kürzeste Sehne auf. Daher läßt sich aus diesem Muskel auch ansatznah am sichersten Muskelmaterial gewinnen.

Tabelle 3

Muskel	Gesamtlänge (mm)	Sehnenlänge (mm)
Rectus internus	40	3,7
Rectus externus	40	8,8
Rectus inferior	40	5,5
Rectus superior	40	5,8
Obliquus inferior	36	<1
Obliquus superior	60	30,0

nach HELVESTON (17)

Darüber hinaus muß noch erwähnt werden, daß man in ansatznahen Muskelbezirken offensichtlich mit intraindividuellen Schwankungen der anatomischen Verhältnisse zu rechnen hat: Bei Excisionsstückchen der gleichen Länge von verschiedenen Schielpatienten fand sich nicht in jedem Fall Muskelgewebe. Diese Beobachtung machten auch MARTINEZ et al. (30).

In Anbetracht der Schwierigkeiten der Materialbeschaffung erschien uns eine Weiterverarbeitung und Auswertung der wenigen brauchbaren Muskelproben dennoch durchaus gerechtfertigt.

3. Materialaufbereitung

Die Weiterverarbeitung der Biopsien erfolgte in Gefrierschnittechnik. Dazu wurde das Muskelstückchen unmittelbar nach der operativen Entnahme mittels Gewebeklebstoff auf ein Korkplättchen aufgeblickt und sofort in Methylbutan, das mit Hilfe von flüssigem Stickstoff auf ca. -180°C gekühlt war, tiefgefroren.

Die auf diese Weise konservierten Muskelblöckchen wurden bei -70°C aufbewahrt ehe sie der Weiterverarbeitung im Cryostat zugeführt wurden.

Dazu ließ man die Gewebestückchen auf -20°C auftauen und fertigte 15 -20 μm dicke Serienschnitte an. Auf Objektträger aufgezogen, konnte man nun an den unfixierten Schnitten nach einer kurzen Trocknungsphase die histochemische Färbeprozedur durchführen.

4. Färbungen

4.1. Histologische Färbung

Hämatoxylin-Eosin

Diese histologische Färbung benutzten wir als Übersichtsfärbung zur Beurteilung des Muskelaufbaus und der morphologischen Einzelheiten, wie Zellgröße und -gestalt, Zellbinnenstrukturen, Zellkerne und Bindegewebsanteile.

4.2. Histochemische Färbungen

- myofibrilläre ATPase (m-ATPase) nach PADYKULA und HERMAN (36) = Routine-ATPase pH 9,4
- ATPase-Reaktion mit Vorinkubation in Na-acetat-Pufferlösung pH 4,35 und Hämatoxylin-Gegenfärbung
- ATPase-Reaktion mit Vorinkubation in Veronal-Pufferlösung pH 10,4

Die histochemischen Enzymnachweismethoden wählten wir für die Fasertypendifferenzierung und die myometrische Analyse.

4.2.1. Prinzip der histochemischen Arbeitsweise

Mit histochemischen Methoden werden gleichzeitig Lokalisation und Aktivität von Enzymen erfaßt. Die enzymatische Reaktion beginnt mit dem Einbringen des Gewebsschnittes in eine gepufferte Substratlösung. Die primären Produkte dieser Reaktion können in der Regel diffundieren; sie bleiben nicht in der unmittelbaren Nähe des Enzymmoleküls liegen, sondern wandern in die Umgebung des Enzymortes ab.

Es kommt also darauf an, das Enzym und das bei der Substratumwandlung anfallende Reaktionsprodukt am Ort des Vorkommens zu halten. Um dies zu erreichen, wird dem Substrat ein Reagens beigegeben, welches mit dem Spaltprodukt eine schwerlösliche Verbindung eingeht. Das Spaltprodukt wird somit schon im Moment seiner Entstehung abgefangen und in unmittelbarer Nähe des Enzymortes festgehalten.

Um den Enzymort mikroskopisch sichtbar zu markieren, werden zur histochemischen Reaktion Stoffe ausgewählt, die dem Spaltprodukt schwerlösliche Farbstoffe liefern.

Zwischen der enzymatischen Aktivität am markierten Zielort und der an dieser Stelle entwickelten Farbstoffmenge besteht eine gute Korrelation.

Vereinfacht dargestellt läuft folgende Reaktionskette ab (Abb. 1a):

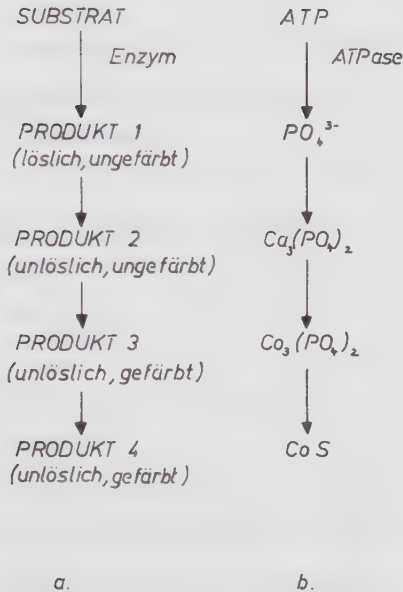


Abb. 1a und 1b

a: Allgemeiner chemischer Reaktionsablauf

b: Ablauf der ATPase-Reaktion nach der Calcium-Kobalt-Methode nach PADYKULA und HERMAN (36)

4.2.2. Darstellung der ATPase-Aktivität in der Muskelfaser

4.2.2.1. Histochemische Reaktionsabläufe

Bei der von uns zur Muskelfaserdifferenzierung gewählten histochemischen Methode wird als Enzym die myofibrilläre ATPase (m-ATPase) nachgewiesen. Allgemein sorgen ATPasen für den physiologischen Abbau von Adenosintri-phosphat (ATP), d.h. sie spalten energiereiche Phosphatbindungen unter Freisetzung von Energie. Man unterscheidet je nach Lokalisation die myofibrilläre ATPase, die Zellmembran-ATPase und die mitochondriale ATPase (26).

Bei der Anwendung der Calcium-Kobalt-Methode nach PADYKULA und HERMAN (36) am quergestreiften Muskelgewebe wird vorwiegend die Ca-aktivierte m-ATPase dargestellt, deren Lokalisationsort die Myofibrillen sind. Der Beweis der Spezifität der Reaktion wurde von PADYKULA und HERMAN (37) erbracht.

Die m-ATPase spaltet vom ATP in Gegenwart von Calciumionen ein Phosphat ab, welches sich im alkalischen pH-Bereich mit Calcium zum unlöslichen Calcium-Phosphat verbindet und am Ort der Enzymaktivität ablagert.

Calcium-Phosphat reagiert mit Kobaltchlorid zu Kobaltphosphat, das mit Hilfe von Ammoniumsulfid zum schwarzbraunen, unlöslichen Kobaltsulfid umgewandelt wird (23). Der Reaktionsablauf ist in Abb. 1 b. wiedergegeben.

4.2.2.2. Färbeprozedur

4.2.2.2.1. Routine-ATPase-Reaktion

Das Inkubationsmedium setzt sich zusammen aus

0,1 M Barbitursäure Na ₂ -salz-Lösung	8 ml
0,18 M Calciumchloridlösung	4 ml
Aqua dest	10 ml
ATP (Serva)	100 mg

Das Reaktionsgemisch wird filtriert, mit Aqua dest auf 40 ml aufgefüllt und der pH-Wert mit 2 N Na-OH-Lösung auf 9,4 eingestellt.

Zur raschen Erwärmung geben wir die Lösung in ein vortemperiertes Gefäß und inkubieren darin die Gewebsschnitte 10 Min. lang bei 37 °C.

Anschließendes Waschen in 1 %iger Calciumchloridlösung (10 Min.) soll ein In-Lösung-gehen des Präzipitats verhindern. Dann läßt man für 3 Min. Kobaltchlorid einwirken und wäscht anschließend die Schnitte gründlich in 5,5 Diäthylbarbitursäure-Na-salz-lösung. Nach kurzem Spülen unter Leitungswasser (40 Sek.) läßt man für

10 Sek. das Gewebe mit 1 %igem Ammoniumsulfid reagieren und wäscht danach gründlich mit Leitungswasser (5 Min.).

Anschließend werden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, in Xylol gereinigt und in EUKITT eingedeckt.

4.2.2.2.2. m-ATPase-Reaktion mit Vorinkubation

GUTH und SAMAHA (13) modifizierten obiges Verfahren, indem sie die Schnitte einer Vorinkubation im sauren und alkalischen Milieu unterzogen. Sie fanden, daß sich die Fasern nicht nur quantitativ in ihrem Enzymgehalt unterscheiden, sondern daß es zwei qualitativ verschiedene Formen der ATPase gibt:

Im sauren Milieu wird die ATPase der Typ I-Fasern aktiviert und läßt die Fasern dunkel gefärbt erscheinen (säure-stabile Form). Umgekehrt wird im alkalischen Milieu die ATPase der Typ II-Fasern aktiviert (alkali-stabile Form). Das Färbeverhalten der Typ I- und Typ II-Fasern im sauren und alkalischen Bereich ist somit reziprok.

Da die pH-Empfindlichkeit der ATPase - wenn auch nur in geringem Umfang - von Spezies und Gewebeart abhängig ist, untersuchten wir in Analogie zu Studien an Ske-

lettmuskeln den Einfluß der Vorinkubation auf die EOM in saurer und alkalischer Umgebung. Wir testeten bei folgenden pH-Werten:

3,9 4,1 4,35 4,5 4,7 5,1 9,2 9,4 9,8
10,2 und 10,4.

Im sauren Bereich erzielten wir bei pH 4,35 die am besten zu interpretierenden Hell-dunkel- Faserfarbkontraste. Im alkalischen Reaktionsbereich zeigte die Färbung bei pH 10,4 zwar insgesamt gute Farbabstufungen der Zellen, wies jedoch für unser modifiziertes Typeneinteilungsschema zu viele unterschiedliche Farbschattierungen auf.

Die Vorinkubationsmedien setzten sich folgendermaßen zusammen:

für die Vorinkubation bei pH 10,4

0,1 M Na-veronallösung	20 ml
0,18 M Calciumchloridlösung	10 ml
Aqua dest	70 ml
mit 0,2 N bzw. 2 N NaOH auf pH 10,4 eingestellt	

für die Vorinkubation bei pH 4,35

5 M Essigsäure	39 ml
5 M Na-acetat	21 ml
mit 0,2 N bzw. 6 N HCl auf pH 4,35 eingestellt.	

Für beide Vorinkubationsmedien betrug die Einwirkzeit 10 Min. bei Zimmertemperatur. Die Inkubation mit anschließender Färbeprozedur erfolgte wie unter 4.2.2.2.1. beschrieben, jedoch mit folgenden Abweichungen:

Bei der ATPase 4,35 gaben wir dem ATP-Präparat der Firma Sigma Chemical Company den Vorzug, da die Färbergebnisse konstant gut waren. Analog der von DURSTON (12) angewandten Färbemethode schließt sich an die Hauptinkubation eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin (10 Min.) an, um den hellen Typ II-Fasern mehr Kontrast zu geben. Sie bekommen dann anstelle ihres sehr hellen Beigetons eine violette Schattierung und lassen sich so besser abgrenzen.

Für die ATPase 10,4 reduzierten wir die ATP-Menge um die Hälfte, da beide Fasertypen bei der angegebenen Menge von 100 mg sehr starke Aktivität zeigten und die Farbunterschiede zwischen Typ I- und Typ II-Fasern zu gering waren.

5. Dokumentation

Die mikroskopischen Präparate der Biopsien aus dem M.obl.inf. und dem M.rect.int. wurden bei 40-facher Vergrößerung mit einer Mikroskop-Kamera (Univa R der Firma Reichert) auf ILFORD PAN F-Schwarz-weiß-Film fotografiert.

Um möglichst genaue Ergebnisse zu erhalten, wurden nicht, wie sonst üblich, einige zufallsmäßig gewählte Gewebsausschnitte aufgenommen, sondern der Muskelquerschnitt wurde in seiner Gesamtheit flächendeckend erfaßt. Die Anzahl der Bilder schwankte zwischen 6 und 41 Aufnahmen je Präparat; dies dokumentiert anschaulich die quantitativen Unterschiede der Biopsien bezüglich ihrer Muskelgewebsanteile.

Zur Bestimmung der Faserquerschnitte wurden die Negative auf das 480-fache vergrößert.

6. Methode der Faserquerschnittsbestimmung

Für die quantitative Ermittlung der Fasergrößen sowie Verteilung der Fasertypen wandten wir eine von DUBOWITZ und BROOKE (11) 1960 entwickelte und am Skelettmuskel erprobte Methode an. Sie stellt das einzige Meßverfahren dar, das nicht durch schräggetroffene oder geknickte Fasern in seiner Genauigkeit beeinflusst wird.

Werden Augenmuskelfasern beim Schneiden exakt quergetroffen, erscheinen sie meist kreisrund. Abweichend von diesem Idealfall findet man ovale und leicht polygonal verformte Querschnitte.

Aus Abb. 2 wird ersichtlich, daß sich abhängig von Faserverlauf und Schnittrichtung bei der gleichen Faser erhebliche Umfangs- und Flächendifferenzen ergeben können. Durch Abweichungen von der Kreisform kann es also bei planimetrischen Meßmethoden zu Fehlurteilen kommen.

DUBOWITZ und BROOKE (11) empfehlen daher folgendes Verfahren:

Der "wahre Durchmesser" wird dadurch ermittelt, daß man zum längsten Längsdurchmesser den größten darauf senkrecht stehenden Querdurchmesser bestimmt.

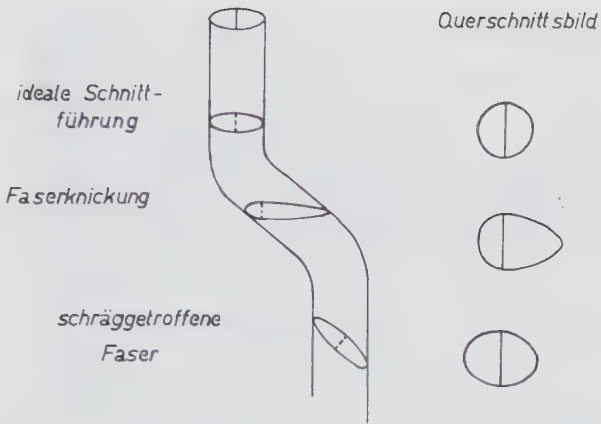


Abb. 2 Einfluß von Schnittrichtung und Faserverlauf auf Faserdurchmesser bei Querschnitten (nach DUBOWITZ und BROOKE (11))

Wie Abb. 2 zeigt, bleibt der längste Querdurchmesser einer Faser unabhängig vom Faserverlauf annähernd konstant, während Flächeninhalt und Umfang variieren.

In Abb. 3 ist das Markierungsprinzip der Fasern zur Querschnittsermittlung nach obigem Verfahren wiedergegeben.

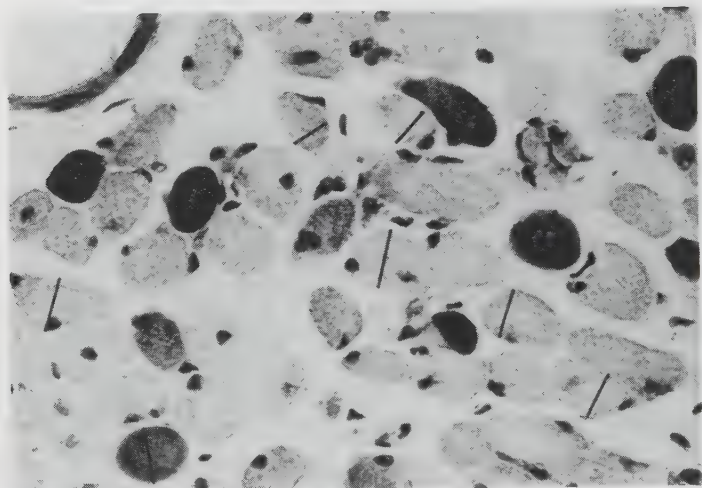


Abb. 3 Bestimmung der Faserdurchmesser

Meßprinzip: Gemessen wird der kleinere von den zwei größten senkrecht zueinanderstehenden Durchmessern. ATPase pH 4,35; 240-fach.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Bestimmung der Querschnittswerte die ATPase-Reaktion pH 4,35 angewandt. Von jedem Präparat ermittelten wir die Durchmesser der Hauptfasertypen I und II getrennt voneinander.

7. Quantitative Bildauswertung

Mit Hilfe eines elektronischen Meßgerätes für quantitative Bildanalysen (MOP/AM 01 der Fa. Kontron), das nach dem Prinzip der Koordinatenmessung arbeitet, wurden die Querschnittsmessungen durchgeführt. Dieses Meßprinzip beruht auf der Messung der Laufzeit magnetostriktiver Wellen in ferromagnetischen Drähten.

Man legt das auszuwertende Bild auf das Auswertetablett und markiert mit einem Auswertestift den Faserquerschnitt. Das Gerät registriert alle zu dieser Linie gehörenden Koordinatenpaare und setzt sie in absolute Längenwerte um.

Die Meßwerte werden gespeichert und entsprechend ihrer Größe klassiert (Klassenbreite 1 mm) und summiert. Bei 480-facher Vergrößerung entspricht 1 mm auf dem Foto 2,08 μm des Faserdurchmessers.

Die ermittelten Daten wurden mit Hilfe eines HP-Rechners (Hewlett-Packard, Modell 9830 A) ausgewertet. Für jede Biopsie wurden die Gesamtfaserzahl, der prozentuale Anteil der Typ I- und Typ II-Fasern sowie ihr

mittlerer Durchmesser mit Standardabweichung und der Variabilitätskoeffizient

$\left(\frac{\text{Standardabweichung} \times 1\,000}{\text{mittl. Faserdurchmesser}} \right)$ berechnet.

Die Größenverteilung beider Faserpopulationen wurde graphisch in Form von Säulenhistogrammen wiedergegeben. Auf der Abszisse sind die Klassen 1 - 15 aufgetragen; die Klassenbreite beträgt 3 μm . Die Höhe der Säulen gibt die absoluten Zahlenwerte der Fasern pro Klasse an. Ferner sind die errechneten Größen, wie Gesamtfasernzahl (N), prozentualer Faseranteil, Mittelwert ($\bar{X}$), Standardabweichung (SD) und der Variabilitätskoeffizient (VAR) auf jeder Graphik angegeben.

Ausgehend von den Einzelhistogrammen wurden Summenhistogramme für den M.rect.int. und den M.obl.inf. und nach Geschlecht getrennte Megahistogramme erstellt.

III. Ergebnisse

1. Aufbau des Augenmuskels - Histologische Beobachtungen

Die EOM weisen einige Besonderheiten auf, die sie von der Extremitätenmuskulatur unterscheiden. Vergleicht man den Querschnitt eines Augenmuskels (Abb. 4) bei geringer Vergrößerung mit einem Skelettmuskel (Abb. 5), so fallen besonders die sehr viel kleineren Faserquerschnitte, ihre mehr oder weniger runden Zellformen, ihr weites Fasergrößenspektrum, der Bindegewebsreichtum und die Innervations- und Kapillardichte auf.



Abb. 4 M.obl.inf. - Übersichtsdarstellung

ATPase 10,4; 15-fach vergr.

Die orbitale Randzone mit kleinkalibrigen Fasern legt sich nahezu ringförmig um den zentralen Muskelbereich mit seinen größeren Fasern

(Die Zersplitterung des Gewebes ist schnittechnisch bedingt)

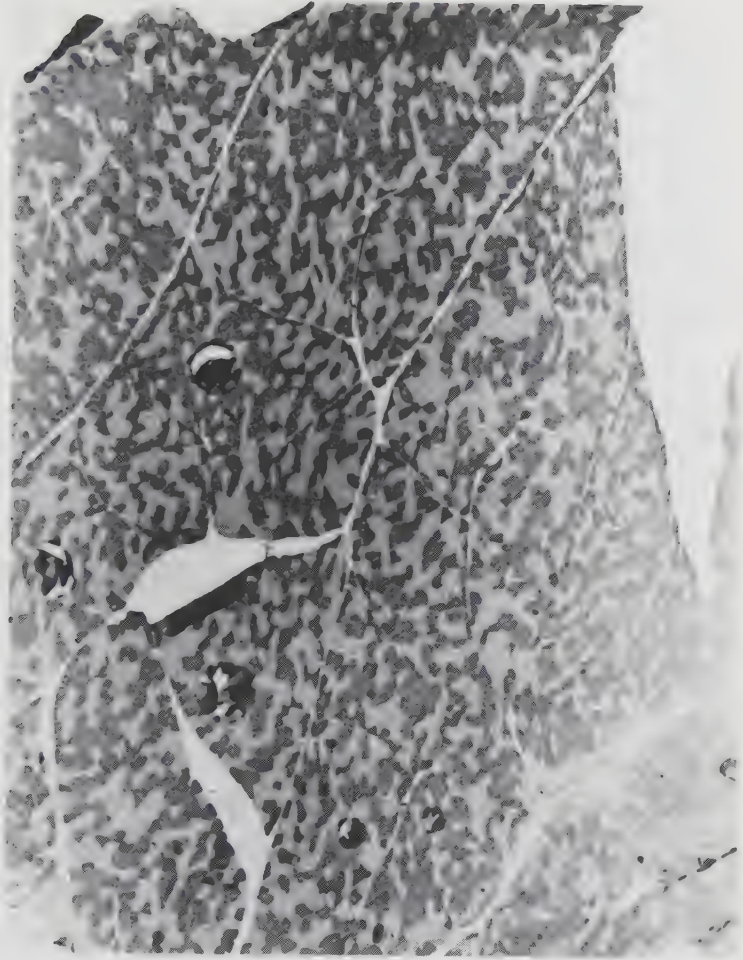


Abb. 5 *M. biceps brachii*

Routine-ATPase pH 9,4; 15-fach vergr.

Darstellung eines Mosaiks aus hellen Typ I- und dunklen
Typ II-Fasern

Bei genauer Betrachtung erkennt man, daß sich der Augenmuskel aus zwei Schichten zusammensetzt:

- a) die bulbäre bzw. globale (zentrale) Schicht
- b) die orbitale (periphere) Schicht

Die orbitawärts gelegene p e r i p h e r e Schicht besteht aus sehr dünnen meist kreisrunden Fasern annähernd gleicher Größe, die von reichlich Bindegewebe umgeben und zu Faszikeln zusammengeschlossen sind. Die Faserbündel werden von verhältnismäßig breiten Bindegewebssträngen getrennt. In der HE-Färbung zeigt die Mehrzahl der Fasern basophile, grob-granuläre Binnenstrukturen.

In unseren Querschnitten aus den Mm.obl.inf. fanden wir, daß die periphere Schicht entweder halbmondförmig drei Seiten des bulbären Bereichs umhüllt (Abb. 6a) oder sich als geschlossener Ring um die Zentralzone legt, wobei sie orbitawärts ausgeprägter ist (Abb. 6b). Sie nimmt dabei etwa 25 - 30 % der Muskelquerschnittsfläche ein.

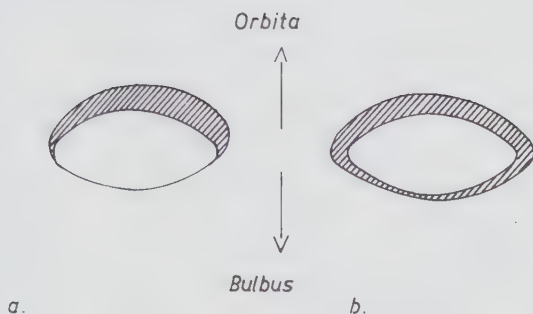


Abb. 6a und 6b Schematische Darstellung der orbitalen und bulbären Schichtenverhältnisse im M.obl.inf. (orbitaler Anteil gestrichelt)

In dem uns zur Verfügung stehenden Material aus dem M.rect.int. sahen wir nur in wenigen Fällen einen zonalen Aufbau, der sich, wenn vorhanden, auf einen kurzen kommaförmigen orbitalen Randsaum beschränkte. In allen übrigen Präparaten zeigte sich lediglich ein Fasermosaik aus unterschiedlich großen Fasern ohne erkennbare Schichtung.

Wie aus Abb. 4 ersichtlich, geht die orbitale Zone ohne klare Trennlinie in die bulbärwärts gelegene zentrale Schicht über.

Die Fasern der zentralen Zone sind z.T. größer als in der peripheren Schicht und variieren stark in ihren Durchmessern. Sie sind kreisrund bis oval oder leicht polygonal konfiguriert. Der Bindegewebsanteil ist in sehnennahen Schnitten größer als peripher, der Faserverband aufgelockert und oft ohne strenge Faszikelanordnung.

In der HE-Färbung besteht im Hinblick auf die Verteilung basophilen intermyofibrillären Materials ein Mosaik aus drei verschiedenen Fasern: Zellen mit größeren zum Teil konfluierenden Granulas, mit runden kleineren Granulas und vereinzelt eosinophile Zellen mit nur angedeuteten Binnenstrukturen (s. Abb. 7).

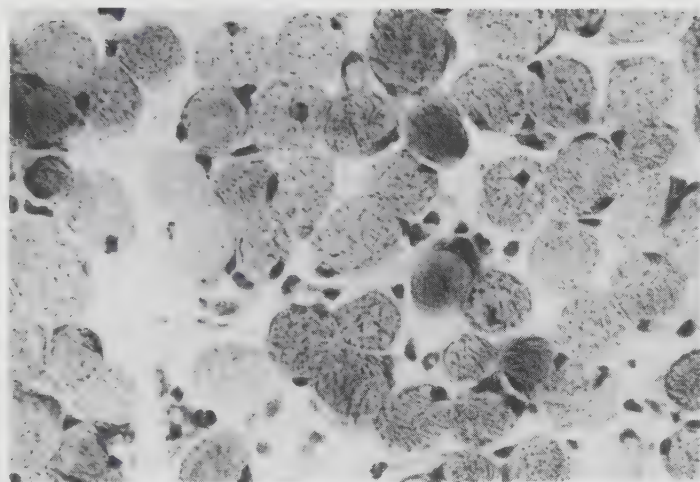


Abb. 7 Histologisches Übersichtsbild (HE; 240 x)

Die Augenmuskelzellen unterscheiden sich morphologisch im Ausmaß ihrer granulären Binnenstrukturen

Die Zellkerne, 1 - 3 pro Zelle, liegen meist subsarkolemmal, manchmal aber auch zentral (3 % im M.obl.inf.).

In grob-granulären Fasern der Schiellmuskeln fanden sich gehäuft Konzentrationen von basophilem Material im Zellinnern. Ob es sich dabei um zentralständige Kerne oder um zentrale Ansammlungen intermyofibrillärer Substanzen handelt, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen.

Eine Charakterisierung der Fasertypen nach Lage der Zellkerne ist sicher nicht möglich; denn, wie ein Vergleich benachbarter Serienschnitte zeigt, wechselt die Lage des Zellkerns in ein und derselben Zelle entlang ihres Faserverlaufs.

2. Histochemische Faserklassifizierung

Die Augenmuskelfasern lassen sich aufgrund ihrer quantitativen und qualitativen Ausstattung der myofibrillären ATPase folgendermaßen differenzieren:

Bei der Routine-ATPase-Reaktion färbt sich die Mehrzahl der Fasern intensiv dunkel, d.h. sie besitzen hohe Enzymaktivitäten.

Dieselben Fasern stellen sich bei Vorinkubation in saurem Milieu blaßgefärbt dar, was auf geringe ATPase-Aktivität schließen läßt.

Dieses Färbeprofil einer Muskelfaser entspricht nach dem Einteilungsprinzip, das von BROOKE und KAISER (8) 1970 für Skelettmuskeln aufgestellt wurde, den
T y p I I - F a s e r n .

Zwischen diesen bei pH 9,4 sehr dunklen Fasern liegen etwas weniger dunkle, die im sauren Milieu von pH 4,35 dunkel getönt imponieren und entsprechend obigem Einteilungsschema als T y p I - F a s e r n bezeichnet werden.

Dieses reziproke Färbeverhalten ist in Abb. 8 und Abb. 9 dargestellt.

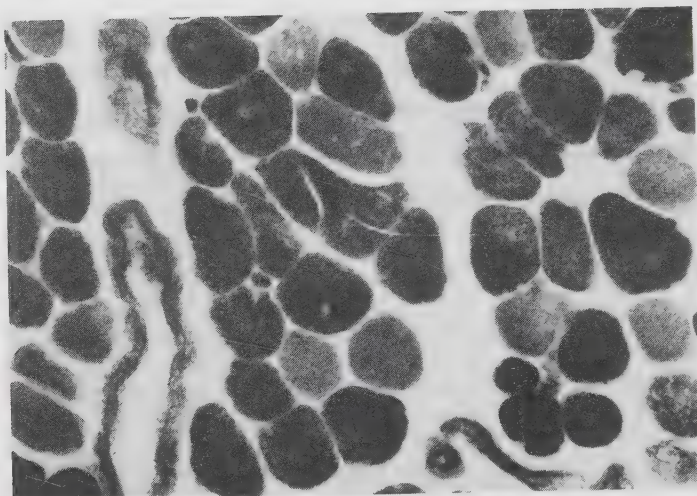


Abb. 8

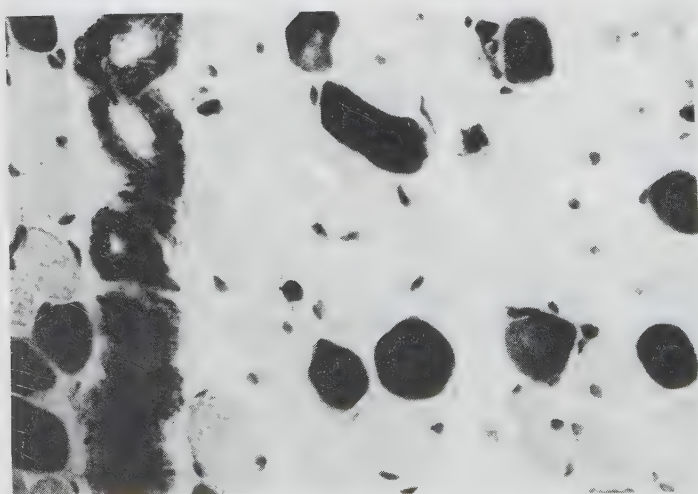


Abb. 9

Abb. 8 und Abb. 9 Reziprokes Färbeverhalten der Typ I-
und Typ II-Fasern dargestellt an Serienschnitten
(240 x)

Abb. 8 ATPase 9,4: Typ I-Fasern zeigen eine mäßige,
Typ II-Fasern eine hohe Enzym-
aktivität

Abb. 9 ATPase 4,35: Typ I-Fasern stellen sich dunkel,
Typ II-Fasern hell dar

Bei Vorinkubation mit pH 10,4 stellen sich Typ II-Fasern als inhomogene farblich abgestufte Gruppe dar und erschweren die Abgrenzung zu den hellen Typ I-Fasern.

Die dunkleren Typ II-Fasern zeigen unterschiedlich deutlich eine schollige Anordnung des abgelagerten Reaktionsprodukts. In Korrelation zu dem morphologischen Erscheinungsbild in der HE-Färbung kann man sie den grob-granulären Fasern zuordnen.

In einigen Schiellmuskeln und ganz vereinzelt auch im M.obl.inf. fielen bei den Typ II-Fasern zentrale, zum Teil auch subsarkolemmal gelegene rundliche Zellbezirke auf, die ungefärbt blieben. Diese Farbaussparungen korrelieren z.T. mit den schon erwähnten intermyofibrillären Konglomeraten im histologischen Bild, die dort manchmal kernähnliche Formen annehmen (Abb. 7, Abb. 8).

Entgegen der Routine-ATPase, die nur eine Unterscheidung zwischen den beiden Hauptfasergruppen zulässt, treten bei Vorinkubation in sauren bzw. alkalischen Milieu Fasern in Erscheinung, die ein abweichendes Färbeverhalten zeigen und sich nicht so leicht in das Schema der Typ I- und Typ II-Fasern einordnen lassen.

Es sind dies Fasern, die sowohl bei pH 10,4 als auch bei pH 4,35 ein hohes Aktivitätsprofil aufweisen. Bei pH 4,35 und pH 10,4 stellen sie sich mittel bis dunkel gefärbt dar.

Gehäuft findet man diese Fasersorte in Randbezirken des Muskels und vereinzelt im Muskelinnern. Sie sind wahrscheinlich mit den Intermediärfasern in der Skelettmuskulatur vergleichbar.

Bei der Typenzuordnung reihten wir diese Fasern wegen ihrer hohen Aktivität in der Routine-ATPase in die Gruppe II ein.

In Tab. 4 sind die Fasertypen mit ihren Färbeprofilen zusammengestellt.

Tabelle 4

Färbung	Typ I	Typ II	Intermediärfaser
ATPase 9,4	mäßig dunkel	sehr dunkel	sehr dunkel
ATPase 10,4	hell	dunkel	mittel bis dunkel
ATPase 4,35	(sehr) dunkel	hell	mittel bis dunkel

Um zu unterscheiden, ob es sich bei einer bei pH 4,35 dunklen Faser um Typ I oder um eine Intermediärform der Typ II-Fasern handelt, zieht man am besten die Routine-ATPase 9,4 zum Vergleich heran.

Stellt sich die Faser hier nur mäßig-dunkel dar, gehört sie zur Gruppe I, zeigt sie eine sehr hohe Aktivität, wird man sie zur Gruppe II rechnen; denn die ATPase 9,4 erlaubt nur die Unterscheidung der beiden Hauptfasergruppen.

Unsere Zielvorstellung, die Fasern sicher einer der beiden Hauptgruppen zuordnen zu können, läßt sich somit durch Kombination der ATPase-Reaktion bei pH 4,35 mit der Routine-ATPase 9,4 verwirklichen.

3. Myometrische Analyse

Die Fasergrößen der Typ I- und Typ II-Fasern wurden anhand der ATPase-Darstellung ohne Berücksichtigung der Zonenzugehörigkeit einer Faser ermittelt. Die Faserverteilungskurven beider histochemisch differenzierbaren Fasertypen aus den Mm.rect.int., Mm.obl.inf. und dem M.obl.sup. sind in Abb. 10 bis Abb. 31 wiedergegeben.

Die Höhe der Säulen gibt die Anzahl der Fasern pro Klasse mit einer Klassenbreite von 3 μm an. Von der Abszisse aus gesehen, sind die Typ I-Fasern im oberen, die Typ II-Fasern im unteren Teil der Diagramme aufgetragen.

Für die statistische Bewertung unserer Untersuchungsergebnisse diente der Student-t-Test für verbundene bzw. unverbundene Stichproben bei zweiseitiger Betrachtung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$.

3.1. M.rectus internus

Abb. 10 bis Abb. 21 zeigen die Größenverteilungskurven der Fasern in den Mm.rect.int.. Die Gesamtzahl der ausgewerteten Fasern je Präparat schwankt zwischen 236 und 1 663 Fasern.

Der Anteil der Typ I-Fasern variiert von 17,6 % - 34,0 % (in einem Fall bis 50,8 %). Das Spektrum der Faserdurchmesser reicht von 3 μm - 33 μm mit Mittelwerten zwischen 12,4 μm und 21,2 μm .

Der prozentuale Anteil der Typ II-Fasern beträgt 66,0 % - 82,4 % (in einem Fall 49,2 %), wobei die Fasergrößen von 3 μm - 39 μm streuen mit Durchschnittswerten zwischen 11,7 μm und 19,2 μm .

In der statistischen Prüfung sind die Typ I-Fasern signifikant größer als die Typ II-Fasern ($p < 0,05$).

Einen Überblick über die genauen Einzelwerte pro Präparat vermittelt Tab. 5.

Die getrennt nach Geschlecht erstellten Megahistogramme (Abb. 22 und Abb. 23) ergeben bei den männlichen Probanden (9 Fälle) einen Prozentanteil an Typ I-Fasern von 28,8 % gegenüber 30,0 % bei den Frauen (3 Fälle).

Der mittlere Faserdurchmesser der Typ I-Fasern beträgt bei den Männern 15,4 μm gegenüber 14,8 μm bei den Frauen. Die Typ II-Faserwerte liegen bei 14,0 μm (Männer) bzw. 13,4 μm (Frauen).

Statistisch lassen sich für beide Fasertypen keine geschlechtsspezifischen Fasergrößenunterschiede sichern.

Aus den Fasern aller Mm.rect.int. resultiert das in Abb. 24 dargestellte Summenhistogramm. Bei insgesamt 8 311 ausgewerteten Fasern haben die Typ I-Fasern einen Anteil von 29,2 %, die Typ II-Fasern 70,8 %. In der Verteilungskurve zeigt sich ein Maximum beider Fasertypen in der Klassengröße 12 - 18 μm bei einem mittleren Durchmesser von 15,2 μm (Typ I) und 13,7 μm (Typ II).

Die Tab. 6 unterrichtet über Prozentverteilung, mittleren Faserdurchmesser mit Standardabweichung und den Variabilitätskoeffizienten für die Mm.rect.int. getrennt nach Geschlecht sowie für alle Muskelproben.

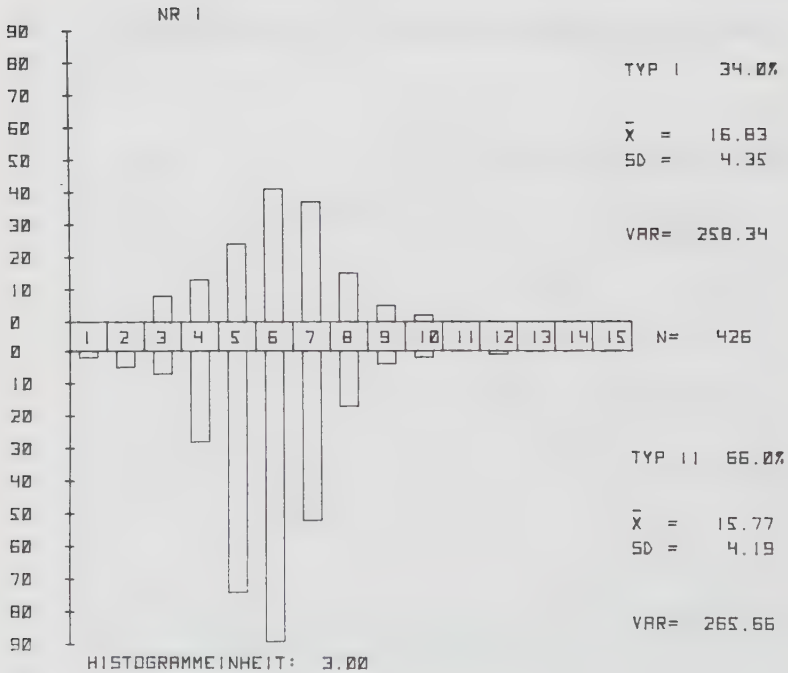


Abb. 10 M.rect.int., männlich, 21 Jahre

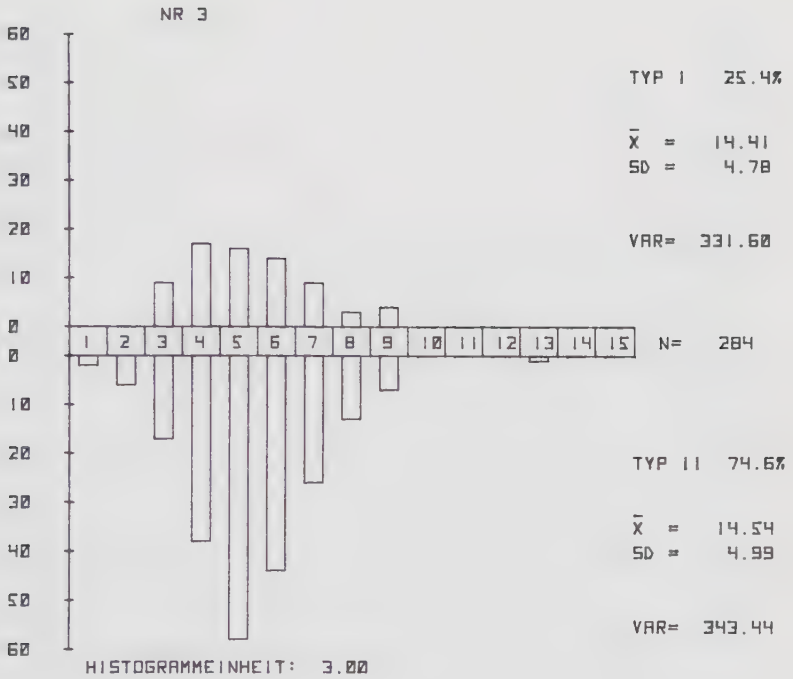


Abb. 11 M.rect.int., männlich, 45 Jahre

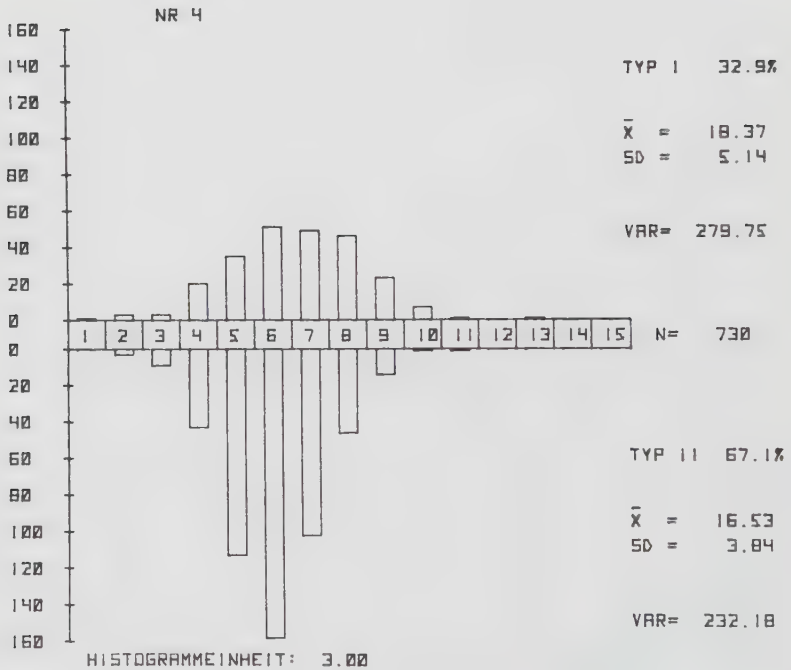


Abb. 12 M.rect.int., weiblich, 27 Jahre

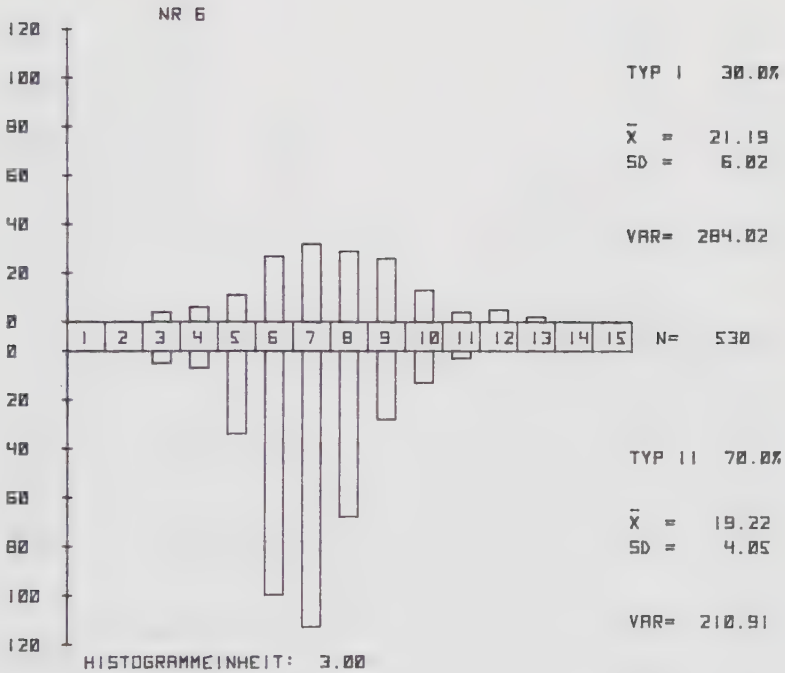


Abb. 13 M.rect.int., männlich, 44 Jahre

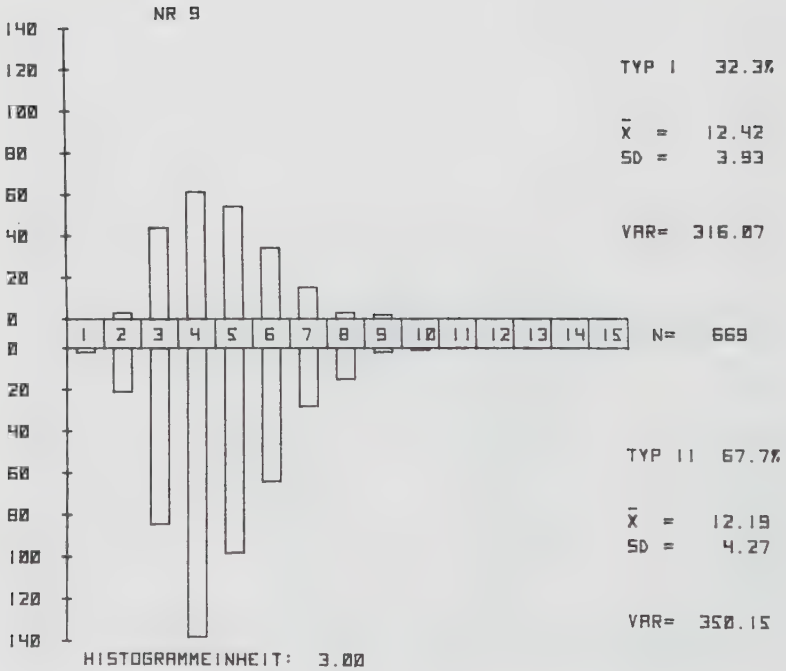


Abb. 14 M.rect.int., männlich, 21 Jahre

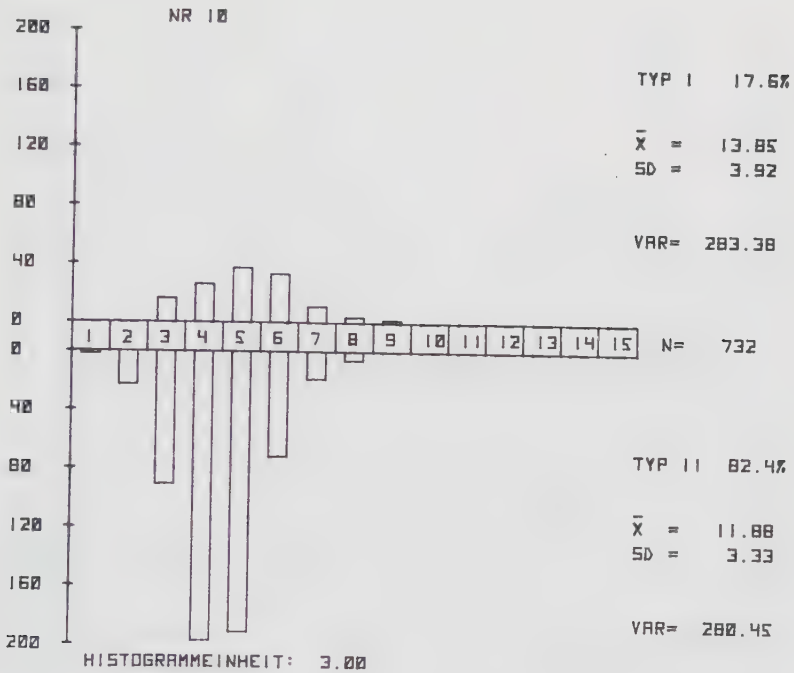


Abb. 15 M.rect.int., männlich, 12 Jahre

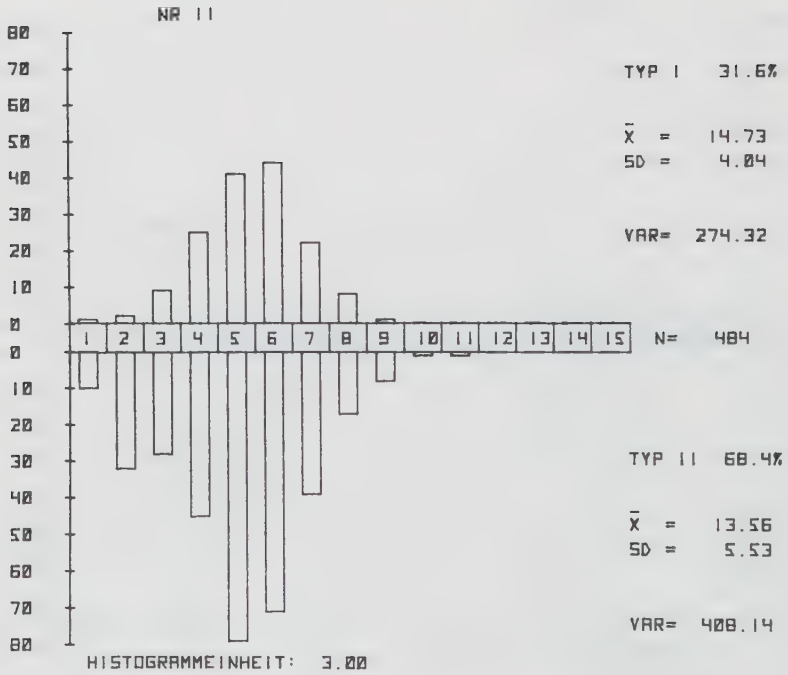


Abb. 16 M.rect.int., weiblich, 30 Jahre

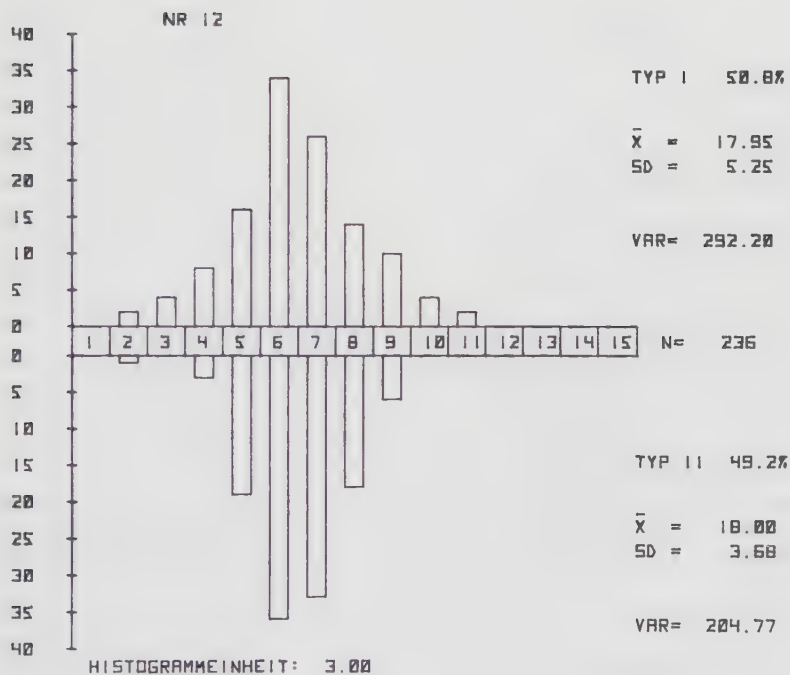


Abb. 17 M.rect.int., männlich, 40 Jahre

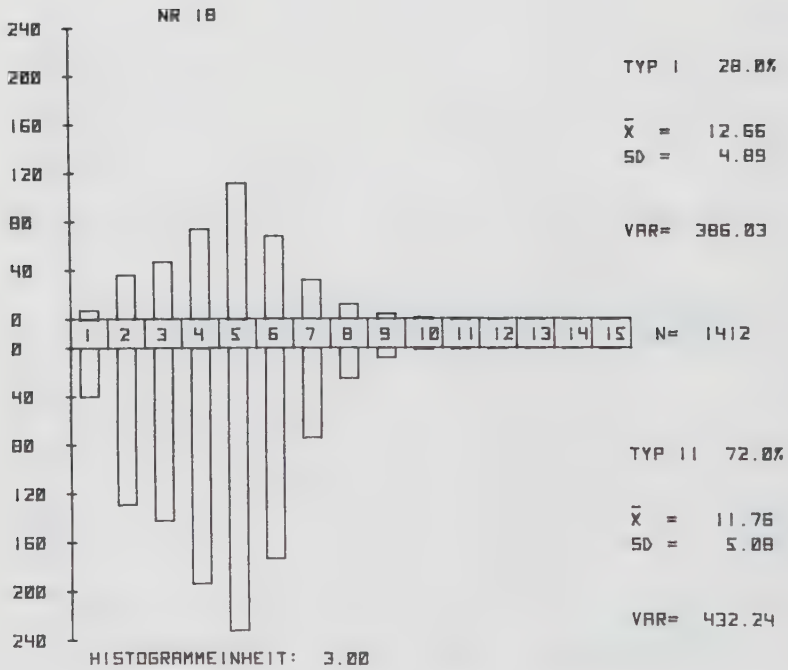


Abb. 18 M.rect.int., weiblich, 20 Jahre

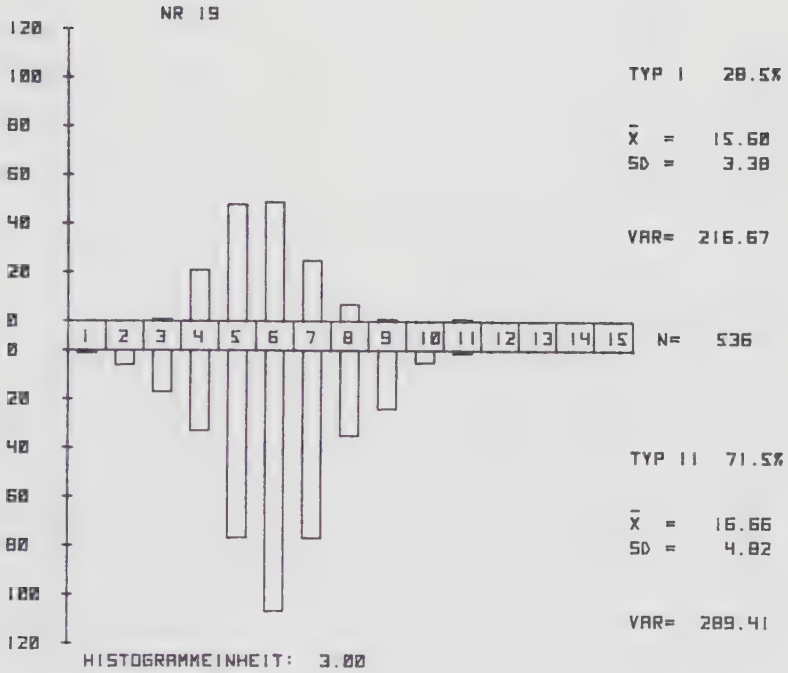


Abb. 19 M.rect.int., männlich, 32 Jahre

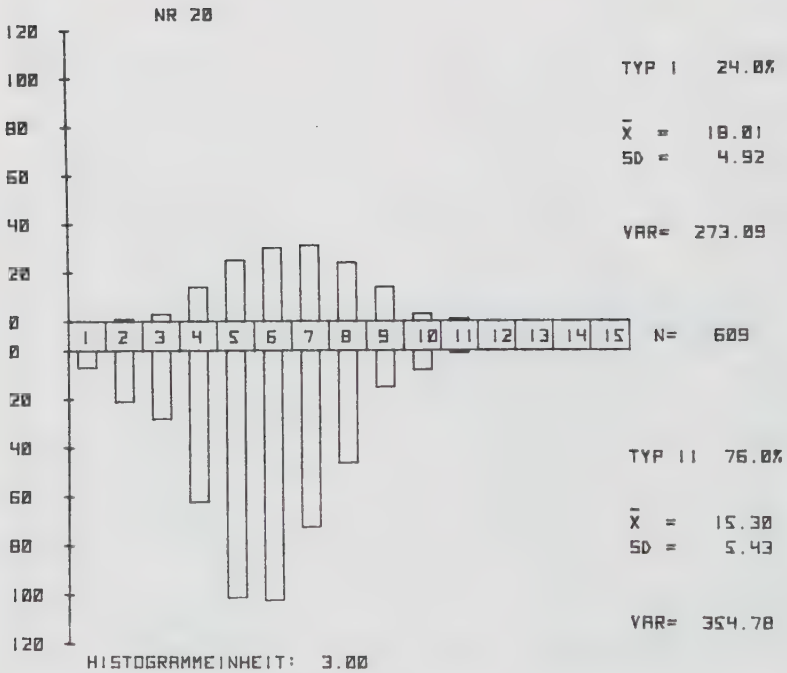


Abb. 20 M.rect.int., männlich, 32 Jahre

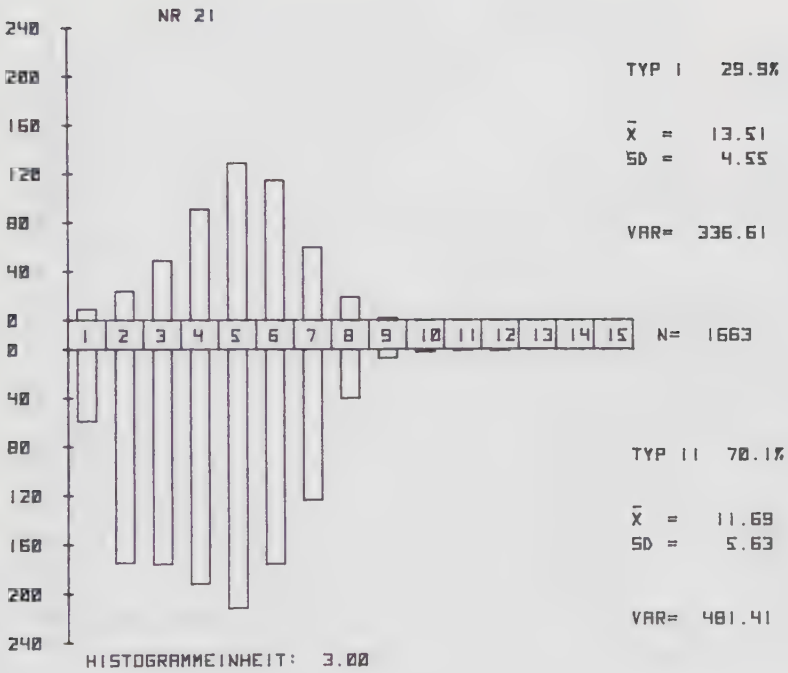


Abb. 21 M.rect.int., männlich, 7 Jahre

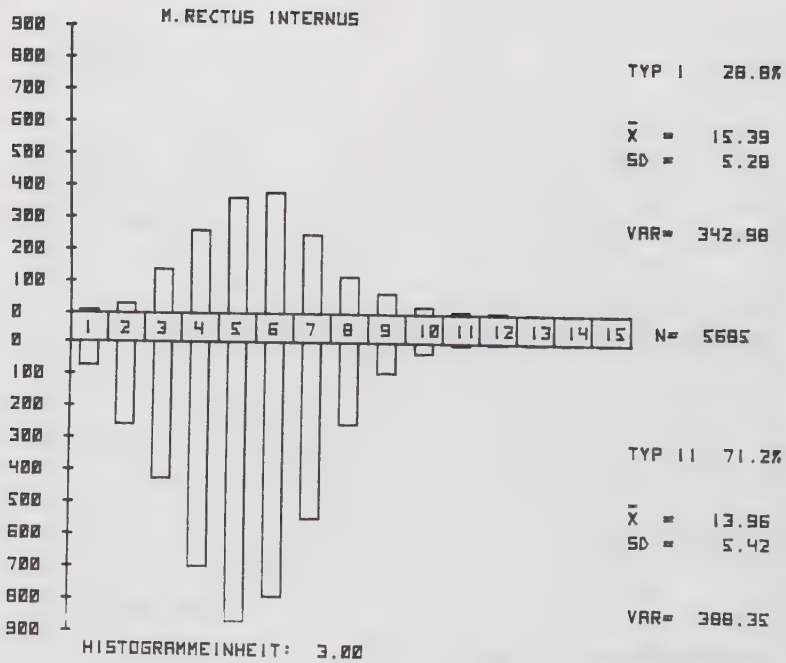


Abb. 22 Mm.rect.int., Megahistogramm männlich
(Biopsie-Nr. 1, 3, 6, 9, 10, 12, 19, 20, 21)

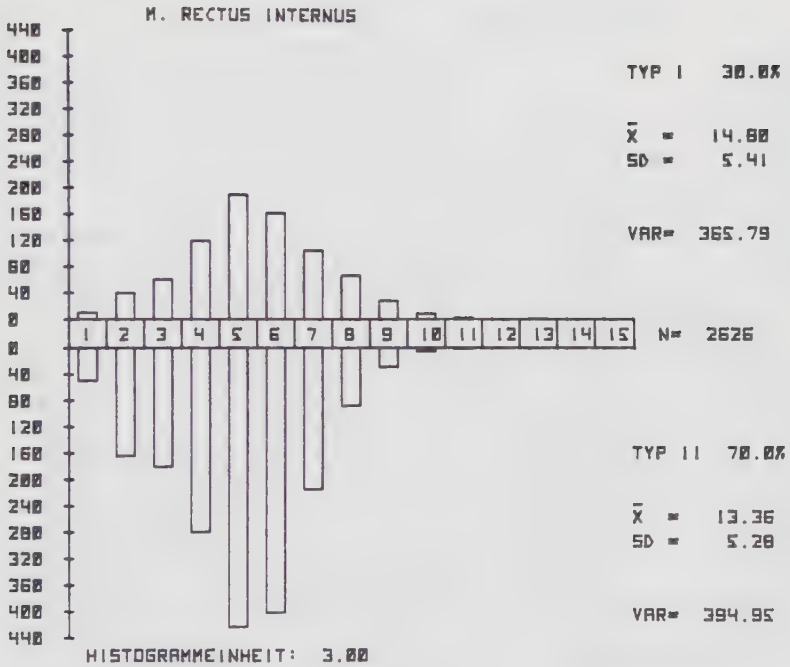


Abb. 23 Mm.rect.int., Megahistogramm weiblich
(Biopsie-Nr. 4, 11, 18)

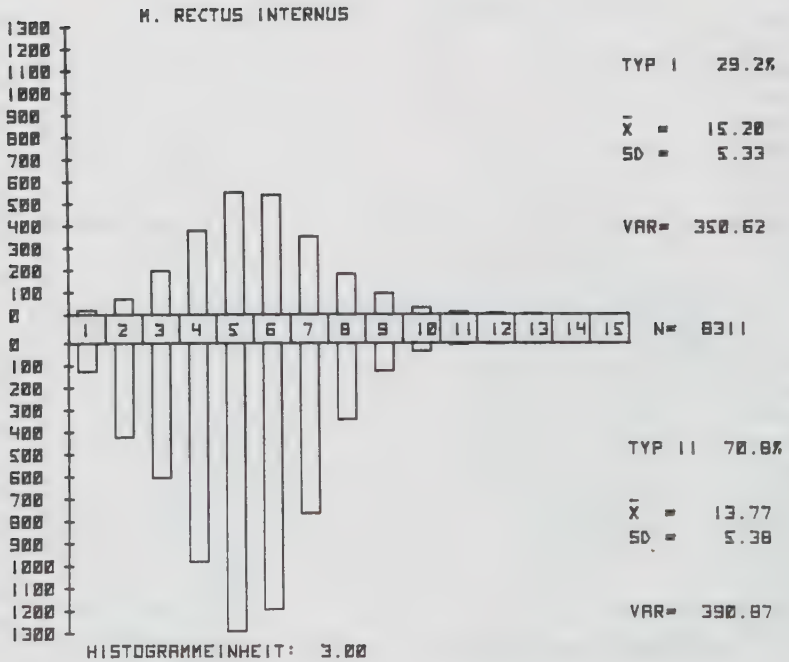


Abb. 24 Mm.rect.int., Summenhistogramm
(Biopsie-Nr. 1 - 21)

Tabelle 5

Biopsie Nr.	Geschlecht	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} + SD$ Typ I	VAR Typ I	$\bar{X} + SD$ Typ II	VAR Typ II
1	männlich	34,0	66,0	16,8 + 4,35	258,3	15,8 + 4,19	265,7
3	männlich	25,4	74,6	14,4 + 4,78	331,6	14,5 + 4,99	343,4
4	weiblich	32,9	67,1	18,4 + 5,14	279,7	16,5 + 3,84	232,2
6	männlich	30,0	70,0	21,2 + 6,02	284,0	19,2 + 4,05	210,9
9	männlich	32,3	67,7	12,4 + 3,93	231,5	12,2 + 4,27	350,2
10	männlich	17,6	82,4	13,9 + 3,92	283,4	11,9 + 3,33	280,5
11	weiblich	31,6	68,4	14,7 + 4,04	274,3	13,6 + 5,53	408,1
12	männlich	50,8	49,2	18,0 + 5,25	292,2	18,0 + 3,68	204,8
18	weiblich	28,0	72,0	12,7 + 4,89	386,0	11,8 + 5,08	432,2
19	männlich	28,5	71,5	15,6 + 3,38	216,7	16,7 + 4,82	289,4
20	männlich	24,0	76,0	18,0 + 4,92	273,1	15,3 + 5,43	354,8
21	männlich	29,9	70,1	13,5 + 4,55	336,6	11,7 + 5,63	481,4

Mm.rect.int.: Prozentuale Fasertypenverteilung und Faserdurchmesser mit Mittelwert $\bar{X}$,
Standardabweichung SD und Variabilitätskoeffizient VAR

Geschlecht	$\bar{x}$ Typ I	$\bar{x}$ Typ II	$\bar{x} \pm SD$ Typ I	VAR Typ I	$\bar{x} \pm SD$ Typ II	VAR Typ II
männlich n = 9	28,8	71,2	15,4 $\pm$ 5,28	343,0	14,0 $\pm$ 5,42	388,4
weiblich n = 3	30,0	70,0	14,8 $\pm$ 5,41	365,8	13,4 $\pm$ 5,28	395,0
gesamt n = 12	29,2	70,8	15,2 $\pm$ 5,33	350,6	13,8 $\pm$ 5,38	390,9

Min.Rect.int.: oben: Megahistogramm der männlichen Probanden (9 Fälle)
 mitte: Megahistogramm der weiblichen Probanden (3 Fälle)
 unten: Summenhistogramm

Tabelle 6

3.2. M.obliquus inferior

Abb. 25 bis Abb. 28 zeigen die Größenverteilungskurven der Fasern in den Mm.obl.inf.

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Fasern pro Präparat schwankt zwischen 344 und 2 466 Fasern.

Der Anteil der Typ I-Fasern liegt zwischen 14 % und 32 %, der der Typ II-Fasern zwischen 69 % und 86 %.

Das Fasergrößenspektrum reicht bei beiden Typen von 3 μm bis 33 μm mit Mittelwerten von 10,2 μm - 15,9 μm (Typ I) und 10,2 μm - 14,9 μm (Typ II). Im statistischen Vergleich finden sich keine Unterschiede zwischen den Typ I- und Typ II-Fasergrößen.

Die prozentualen Faserverteilungen und die mittleren Faserdurchmesser sind für jedes Präparat in Tab. 7 aufgelistet.

Zur Prüfung einer geschlechtsspezifischen Fasergrößenverteilung können wir den drei Fällen von männlichen Probanden (Megahistogramm Abb. 29) nur einen einzigen Muskel einer Frau gegenüberstellen (Abb. 26).

Einem relativ hohen Anteil an Typ I-Fasern (31,5 %) mit einem mittleren Durchmesser von 10,2 μm bei der Frau

stehen 15,2 % durchschnittlich 14,8 μm große Typ I-Fasern beim Mann gegenüber.

Für die Typ II-Fasern errechnet sich ein prozentualer Anteil von 68,5 % bei einem Größenmittelwert von 10,3 μm bei der Frau; das Megahistogramm der männlichen Probanden zeigt bei einem Anteil von 84,8 % durchschnittlich 14,5 μm große Typ II-Fasern.

Insgesamt wurden aus den Mm.obl.inf. 5 410 Fasern myometrisch erfaßt. Über die Größenverteilung informiert das Summenhistogramm in Abb. 30: 21,9 % stellen Typ I-Fasern dar, deren mittlere Größe bei 12,1 μm liegt. 78,1 % beträgt der Anteil der Typ II-Fasern mit einem mittleren Faserdurchmesser von 13,0 μm .

Über das dem geschlechtsspezifischen Megahistogramm und dem Summenhistogramm der Mm.obl.inf. zugrundeliegende Zahlenmaterial unterrichtet Tab. 8.

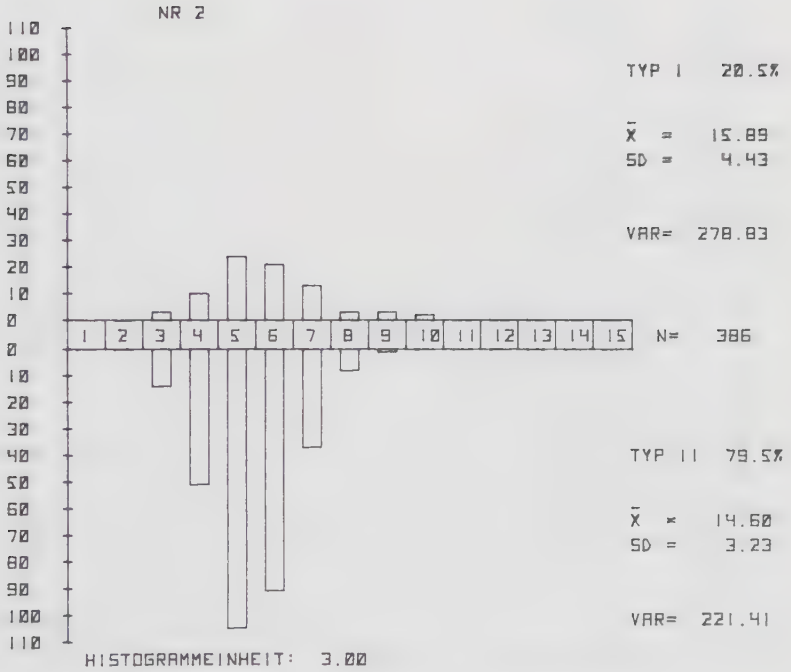


Abb. 25 M.obl.inf., männlich, 65 Jahre

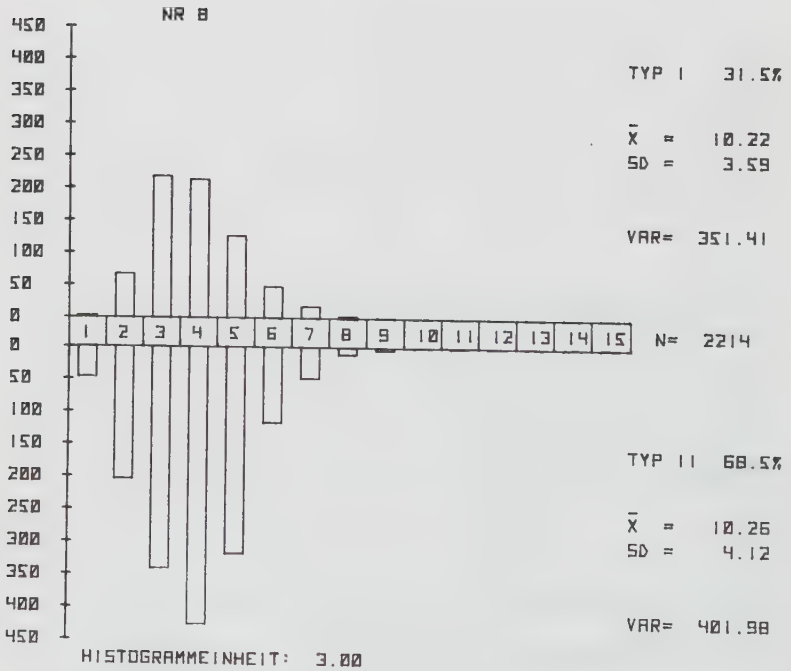


Abb. 26 M.obl.inf., weiblich, 21 Jahre

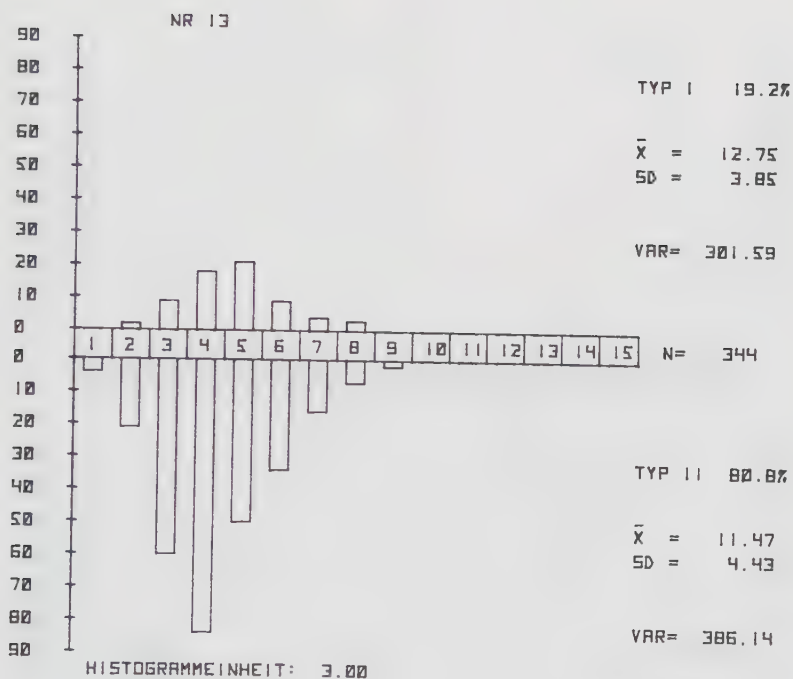


Abb. 27 M.obl.inf., männlich, 82 Jahre

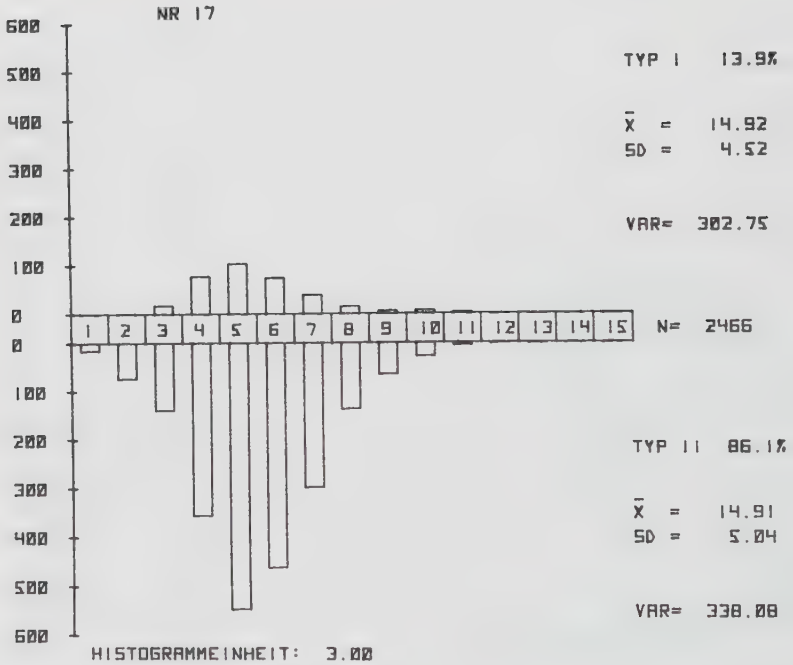


Abb. 28 M.obl.inf., männlich, 54 Jahre

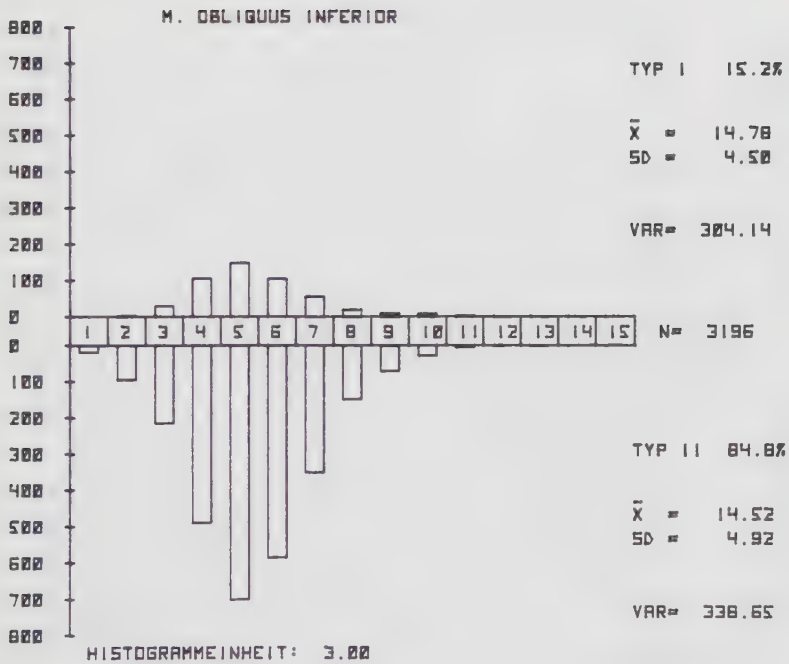


Abb. 29 Mm.obl.inf., Megahistogramm, männlich
(Biopsie-Nr. 2, 13, 17)

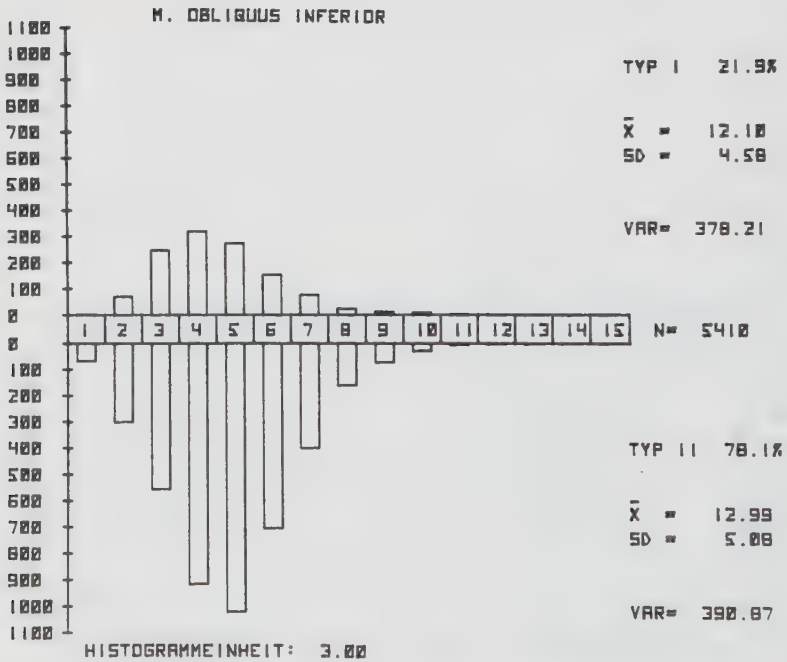


Abb. 30 Mm.obl.inf., Summenhistogramm
(Biopsie-Nr. 2, 8, 13, 17)

Tabelle 7

Biopsie Nr.	Geschlecht	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} + SD$ Typ I	VAR Typ I	$\bar{X} + SD$ Typ II	VAR Typ II
2	männlich	20,5	79,5	$15,9 \pm 4,43$	278,8	$14,6 \pm 3,23$	221,4
8	weiblich	31,5	68,5	$10,2 \pm 3,59$	351,4	$10,3 \pm 4,12$	402,0
13	männlich	19,2	80,8	$12,8 \pm 3,85$	301,6	$11,5 \pm 4,43$	386,1
17	männlich	13,9	86,1	$14,9 \pm 4,52$	302,7	$14,9 \pm 5,04$	338,1

Mm.obl.inf.: Prozentuale Fasertypenverteilung, mittlere Faserdurchmesser $\bar{X}$ mit Standardabweichung SD und Variabilitätskoeffizient VAR

Geschlecht	$\bar{x}$ Typ I	$\bar{x}$ Typ II	$\bar{x} \pm SD$ Typ I	VAR Typ I	$\bar{x} \pm SD$ Typ II	VAR Typ II
männlich n = 3	15,2	84,8	14,8 $\pm$ 4,50	304,1	14,5 $\pm$ 4,92	338,7
weiblich n = 1	31,5	68,5	10,2 $\pm$ 3,59	351,4	10,3 $\pm$ 4,12	402,0
gesamt n = 4	21,9	78,1	12,1 $\pm$ 4,58	378,2	13,0 $\pm$ 5,08	390,9

Mm.obl.inf.: oben: Megahistogramm der männlichen Probanden (3 Fälle)
im Vergleich mit dem einzigen weiblichen Probanden (mitte)
unten: Surmenistogramm

Tabelle 8

Vergleicht man die myometrischen Ergebnisse des M.obl.inf. mit den für den M.rect.int. ermittelten Werten, so läßt sich bezüglich der prozentualen Faserverteilung kein statistisch gesicherter Unterschied finden. Der höhere Anteil der Typ I-Fasern im M.rect.int. liegt knapp unterhalb der Signifikanzschranke.

Auch die Werte für die Typ I- und Typ II-Fasergrößen differieren nur zufällig.

Aus statistischer Sicht verhalten sich somit beide Muskeln, der M.rect.int. und der M.obl.inf., in der myometrischen Analyse gleichförmig.

3.3. M.obliquus superior

Obwohl uns nur eine Biopsie mit auswertbarem Muskelmaterial aus dem M.obl.sup. zur Verfügung stand, wollen wir das Histogramm wegen seines abweichenden Kurvenverlaufs dem M.obl.inf. desselben Probanden gegenüberstellen (Abb. 27 und Abb. 31).

Die Faserverteilungskurve des M.obl.sup. zeigt im Bereich der Typ I-Fasern nicht die Glockenform wie bei den anderen Muskelarten, sondern tendiert zu einer Plateaubildung.

Die Gruppe der Typ I-Fasern ist im M.obl.sup. kleiner (15,2 % gegenüber 19,2 % im M.obl.inf.), der Faserdurchmesser im Mittel größer (15,8 μm gegenüber 12,8 μm).

Auch die Typ II-Fasern sind im M.obl.sup. mit 15,1 μm größer als die im M.obl.inf. (11,5 μm).

Aus dem Vergleich eines einzigen Muskelpaares der beiden Obliqui kann selbstverständlich keine statistische Signifikanz für die unterschiedlichen Größen abgeleitet werden.

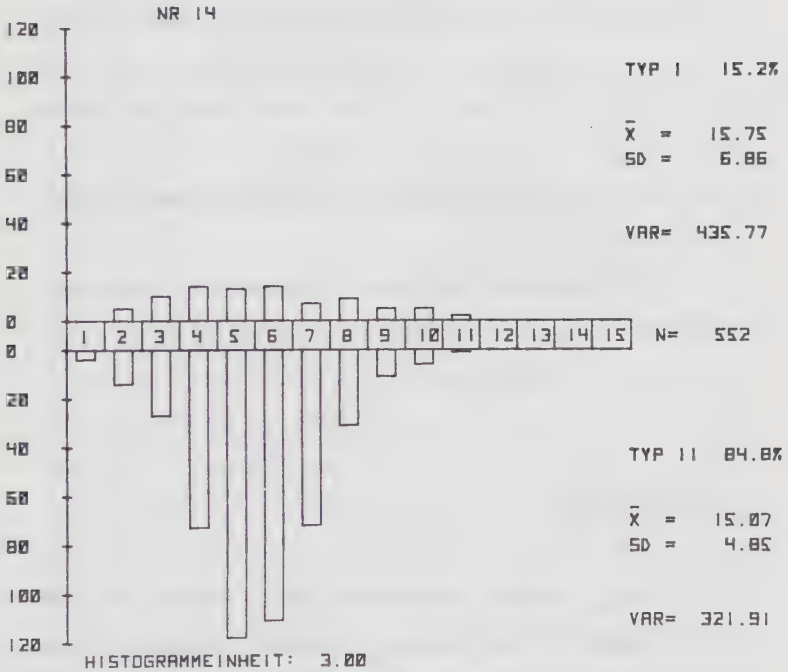


Abb. 31 M.obl.sup., männlich, 82 Jahre

IV. Diskussion

Ein Vergleich der vorliegenden Arbeit mit anderen Arbeiten auf dem Gebiet der histochemischen Faserdifferenzierung an den EOM wird durch eine Reihe von Faktoren erschwert. Die Arbeiten differieren u.a. bezüglich

- des verwendeten Muskelmaterials und des untersuchten Muskelabschnittes
- der Kriterien der histochemischen Faserdifferenzierung
- der myometrischen Analyse

1. Materialwahl

Nicht zuletzt wegen der Schwierigkeit, natives menschliches Augenmuskelmaterial zur Untersuchung verfügbar zu haben, ist die Zahl der Arbeiten über histochemische Faserdifferenzierung an den EOM des Menschen in dem uns vorliegenden Schrifttum begrenzt (12, 20, 21, 22, 39).

Zum Vergleich sollen daher auch einige Abhandlungen über Untersuchungen an verschiedenen Tierspezies herangezogen werden. Dabei kann man eventuelle speziesspezifische Besonderheiten nicht ausschließen.

DURSTON (12), RINGEL et al. (39) und JENNEKENS et al. (22) untersuchten alle sechs Augenmuskeln, HOOGENRAAD et al. (21) selektierten den M.obl.inf. als Biopsiemuskel der Wahl. In der vorliegenden Arbeit stammte das Material aus dem M.obl.inf., M.obl.sup. und M.rect.int.

Über die Vergleichbarkeit der einzelnen Muskelarten untereinander bezüglich ihrer Fasertypen- und -größenverteilungen stehen die Aussagen von KATO (24), YELLIN (47), BREININ (7) und SCHUMACHER et al. (42) im Widerspruch zu denen von RINGEL et al. (39).

Letztere fanden zwischen den sechs Augenmuskeln bezüglich ihrer Faserdicken- und -verteilungsprofile keine signifikanten Unterschiede, während die anderen Autoren auf Differenzen zwischen Recti und Obliqui hinwiesen.

In allen diesen Studien ging man von gesundem Muskelmaterial aus, das meist im Rahmen von Enukleationsoperationen entnommen wurde. In der vorliegenden Arbeit wurden darüber hinaus Muskeln von Patienten mit Strabismus divergens untersucht, also Material, das nicht ohne Vorbehalt gesunden Augenmuskeln gleichgestellt werden kann.

Über eine mögliche Auswirkung der Schielstellung eines Auges auf den Muskel hinsichtlich Enzymaktivität, Fasertypen- und -größenverteilung finden sich nur wenige Hinweise (2, 27, 29, 30).

Die Problematik der Beurteilung von Schielmuskeln liegt zudem darin, daß uns nur das bei der Schieloperation entfernte Stück aus dem zu schwachen M.rect.int. zur Verfügung steht und die Vergleichsmöglichkeit mit dem korrespondierenden zu starken Partner, dem M.rect.ext., fehlt.

Leider konnten wir den Schielmuskeln keine Mm.rect.int. gesunder Probanden gegenüberstellen. Wir müssen auf Vergleichsmaterial aus der Literatur zurückgreifen.

2. Wahl der Schnittebene

Ein weiterer Punkt, der wegen der besonderen Faserarchitektur beim Vergleich von Augenmuskeluntersuchungen zu berücksichtigen ist, betrifft die Wahl der Schnittebene; denn die Verteilung der Fasertypen und ihre Schichtenanordnung verändern sich vom Ursprung zum Ansatz (7).

Das in unserer Studie verwendete Material stammt - operationstechnisch bedingt - aus ansatznahen Muskelregionen. Wir müssen daher unsere Aussagen bezüglich Fasertypen und -größen auf diesen Bezirk begrenzen und dies beim Vergleich mit anderen Arbeiten berücksichtigen.

Alle anderen Autoren geben als Ort der Materialgewinnung das mittlere Muskeldrittel an. Hier finden sich die meisten Fasern, die beste Schichtenausbildung und die geringste Varianz bezüglich Faseranzahl und -größen. Die dieser Aussage zugrunde liegenden faserarchitektonischen Besonderheiten sollen kurz erläutert werden.

Die Beobachtung von VOSS (45) und MÜHLENDYCK (33), daß die Zahl der Muskelfasern vom Muskelbauch nach beiden Enden zu abnimmt, bestätigten ALVARADO und VAN HORN (3) anhand von Faserzählungen auf verschiedenen Schnittniveaus. Dieser Befund erklärt die unterschiedlichen Fasergesamtzahlen in unseren Präparaten.

Ursache dafür ist, daß nicht alle Fasern den Muskel in seiner ganzen Länge durchziehen. Es konnte eine Reihe von kurzen Fasern mit unterschiedlicher Lokalisation innerhalb des Muskels isoliert werden (32, 35). Sie weisen Faserverästelungen auf (32), wodurch sich die

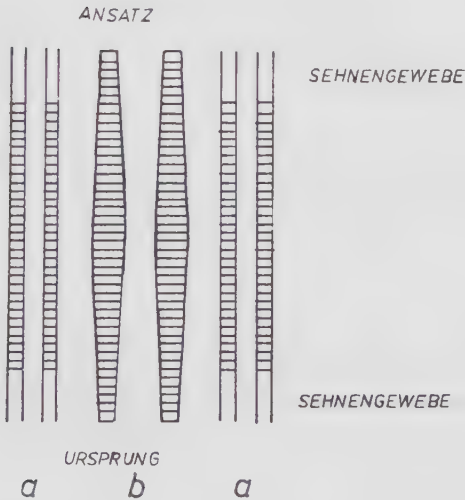
Zahl der Fasern vergrößert, der Durchmesser gleichzeitig verkleinert (16). DAVIDOWITZ (9) findet in der orbitalen Zone kurze Fasern an beiden Muskelenden und solche, die vom Ursprung bis zum distalen Muskeldrittel reichen oder im Muskelbauch enden.

Aus einigen Serienschnittuntersuchungen (3, 9, 33, 35) ist bekannt, daß die periphere Schicht kürzer ist als die zentrale; sie geht im mittleren Teil des distalen Muskeldrittels in Sehnengewebe über. So finden ALVARADO und VAN HORN (3) in ihren Faserlängenuntersuchungen am M.obl.inf. 4 - 6 mm vom Übergang des Muskels in die Sehne nur noch wenige oder keine Fasern der peripheren Zone. Diese Tatsache liefert eine Erklärung dafür, daß wir in den von uns untersuchten sehnennahen Muskelpartikeln meist keinen Schichtenaufbau erkennen.

Auch die Fasergrößen sind lokalisationsbedingten Schwankungen unterworfen. VOSS (45) berichtete 1957 über das Vorkommen von ausschließlich kleinkalibrigen Fasern im Ansatzbereich, während er zur Muskelmitte hin zunehmend dicke Fasern fand. Dieser Beobachtung liegen laut MÜHLENDYCK (33) ursächlich sowohl dünne Fasern mit konstantem Durchmesser zugrunde, die früher in Sehnengewebe übergehen, als auch Fasern, die den Muskel in seiner ganzen Länge durchziehen, an den Enden jedoch

dünnere sind als im Muskelbauch.

Zur Verdeutlichung sind diese beiden Fasertypen schematisch in Abb. 32 wiedergegeben.



nach MÜHLENDYCK (33)

Abb. 32 Schematische Darstellung von 2 Fasertypen

- a) dünne kürzere Fasern ohne Kaliberschwankungen, in der Muskelperipherie gelegen
- b) dicke, lange, sich an beiden Enden zuspitzende Fasern, im Muskelzentrum lokalisiert

Erwartungsgemäß zu diesem Faserverhalten finden wir in unserem Untersuchungsgut vergleichbar viele kleinkalibrige Fasern.

Neben den konisch zugespitzten Fasern werden auch solche beschrieben, die zu den Enden hin dicker werden (9) und solche, die von proximal nach distal kontinuierlich an Durchmesser gewinnen (35).

DAVIDOWITZ et al. (9) fanden darüber hinaus Fasern, die von der globalen in die orbitale Schicht ziehen und dabei dicker werden.

Wenn diese vielgestaltigen Kalibervariationen auch für menschliche Augenmuskelfasern zutreffen, müssen deutliche Unterschiede der Fasergrößen in Abhängigkeit vom Schnittniveau resultieren.

3. Histologische Beobachtungen

Der von KATO (24) 1938 beschriebene Zwei-Schichtenaufbau mit seinen peripher dünnen und zentral dickeren Fasern konnte an den EOM verschiedener Spezies immer wieder bestätigt werden. Aus bereits dargelegten Gründen fanden wir ansatznah diesen klassischen Aufbau nur in vereinzelt Schnitten.

Wie aus der Literatur zu entnehmen ist, unterliegt die orbitale Schicht bezüglich Form und Ausmaß erheblichen Schwankungen in Abhängigkeit von der untersuchten Spezies, der Muskelart und besonders der Schnittebene. Laut BREININ (7) findet man sie in manchen Muskelabschnitten zweigeteilt, in anderen als einheitliche Schicht oder vermißt sie völlig..

Die Beschreibungen der orbitalen Schicht im distalen Muskelbereich variieren von komma- oder C-förmig (3, 12, 31, 39, 43) bis zu ringförmig (4).

In den von uns beurteilten Muskeln fanden wir alle Übergänge von einem schmalen Randsaum im M.rect.int. über C-Form bis zum nahezu geschlossenen Ring im M.obl.inf.

RINGEL et al. (39) und DURSTON (12) postulieren zwischen der orbitalen und bulbären Schicht eine dritte Zone. HARKER (16) beschreibt am Muskelansatz eine zusätzliche "peripheral patch"-Schicht.

Im histologischen Übersichtsbild finden wir in Übereinstimmung mit den anderen Autoren abgerundete Zellen von stark variierender Größe in mehr oder weniger strenger Faszikelanordnung umgeben von zellreichem Bindegewebe.

Als Besonderheit des Schielmuskels beschreiben MARTINEZ et al. (30) eine größere Variation der Faserstärken und eine Zunahme des Bindegewebsanteils.

Wie andere Autoren (4, 6, 12, 21, 39, 43) finden wir im gesunden Muskel neben subsarkolemmal auch vereinzelt zentral gelegene Kerne. Kernstrukturähnliche Gebilde zeigen sich gehäuft im Zentrum von Muskelfasern bei Schielern. Wären es tatsächlich zentrale Zellkerne, könnte man in dieser Veränderung eine unspezifische Antwort des Augenmuskels auf einen pathologischen Reiz sehen, wie es DRACHMAN et al. (10) bei Fasern nach Denervation beobachteten.

Man darf jedoch eher davon ausgehen, daß es sich um intrasarkoplasmatische und subsarkolemmal gelegene Ansammlungen intermyofibrillärer Substanzen handelt, also um Stellen ohne myofibrilläres Material.

Dies bestätigt die Beobachtung, daß man bei Darstellung der ATPase 9,4 in den dunklen Typ II-Fasern von Schielmuskeln gehäuft subsarkolemmal oder zentral ungefärbte Bezirke feststellen kann. Sie entsprechen den bei MARTINEZ et al. (29) beschriebenen "Nemaline rods", die gehäuft bei Strabismus divergens auftreten sollen (30). Da man sie jedoch auch im normalen Muskel findet (21),

ist ihre Bedeutung für die Pathogenese des Schielens fraglich.

DURSTON (12) und RINGEL et al. (39) unterscheiden anhand histologischer Färbungen (HE, modif. Trichrom) die Zellen nach ihren unterschiedlich stark ausgeprägten retikulären Binnenstrukturen. Ihren als "coarse" bezeichneten Fasern entsprechen in unserer HE-Färbung Zellen mit größeren unregelmäßigen Granulas, den "granular fibers" die mit kleineren runden Granulas. Die vereinzelt eosinophilen Fasern kommen wahrscheinlich den "fine fibers" dieser Autoren gleich.

4. Histochemische Faserdifferenzierung

Bei der Funktion des Sehens haben die EOM die Aufgabe, Bewegungen unterschiedlicher Schnelligkeit und unterschiedlichen Ausmaßes auszuführen. Die Bewegungsarten reichen von schnellen saccadischen Blickbewegungen bis zu langsam gleitenden Augenfolge- und Konvergenzbewegungen. Gemäß dieser Aufgabenvielfalt dürfen wir Faserarten mit entsprechend angepaßter Enzymausstattung erwarten.

Ein Vergleich unserer histochemischen Fasertypendifferenzierung mit vorangegangenen Publikationen wird durch differierende methodische Ansätze erschwert.

Manche Autoren verwenden die Histochemie zur Komplettierung ihrer nach elektronenmikroskopischen Gesichtspunkten getroffenen Faserdifferenzierung (16, 31, 38). Andere Autoren, die ihre Fasertypenzuordnung ausschließlich auf histochemischer Grundlage treffen, benutzen dabei eine Palette verschiedener Enzymdarstellungen (4, 21).

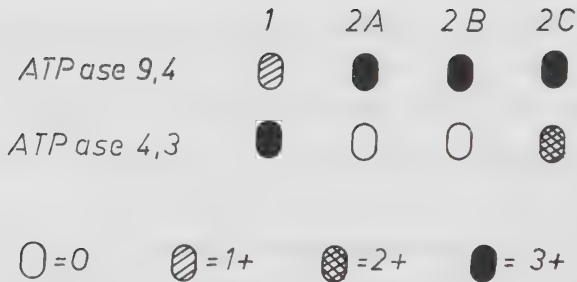
DURSTON (12) und RINGEL et al. (39) teilen die Fasern zuerst nach ihrem Erscheinungsbild in konventionellen Färbungen in "coarse", "fine" und "granular" und weisen ihnen dann histochemische Färbeprofile zu.

Die Klassifizierung einer Faser erfolgte darüber hinaus in den meisten Studien unter Berücksichtigung ihrer Lage in der bulbären oder orbitalen Schicht, ihres Durchmessers und ihres Innervationstypus. Auf diese Weise wurden bis zu 6 verschiedene Faserarten differenziert (4, 16, 31).

Die Typenzuordnung in der vorliegenden Arbeit basiert allein auf dem Nachweis der m-ATPase unter Ausnutzung der pH-Labilität dieser Reaktion. In Anlehnung an die

Fasernomenklatur beim Skelettmuskel gliederten wir die Augenmuskelfasern in Typ I und Typ II. Die Typ II-Fasern stellen sich bei pH 9,4 ohne Vorinkubation oder mit Vorinkubation bei pH 10,4 dunkel, die Typ I-Fasern hell dar; bei pH 4,35 färben sich die Fasern spiegelbildlich dazu an.

Läßt man die Intermediärfasern zunächst außer acht, zeigen die Augenmuskelfasern dasselbe Färbeverhalten für die m-ATPase wie die Skelettmuskelfasern, deren entsprechendes Profil in Abb. 33 wiedergegeben ist.



nach DUBOWITZ und BROOKE (11)

Abb. 33 Fasertypeneinteilung mit Darstellung der entsprechenden Färbeprofile am Skelettmuskel

Qualitativ betrachtet fällt beim Vergleich der *ATPase* 9,4-Reaktion beider Muskelarten die höhere Enzymaktivität der Augmuskelfasern auf.

Bezüglich der Intensität der Faseranfärbbarkeit von Schielmuskeln und normalen Muskeln konnten wir in der von uns durchgeführten Darstellung der myofibrillären *ATPase* keine Unterschiede erkennen.

Eine deutliche Aktivitätsminderung bei Strabismus verzeichnete dagegen AICHMAIR (2) bei der Mg-aktivierten ATPase und anderen in den Mitochondrien lokalisierten Enzymen. Als ultrastrukturelles Korrelat fand er eine Verringerung des Mitochondrienvolumens in Schiellmuskefasern (1).

Um unsere histochemischen Befunde besser mit denen anderer Autoren vergleichen zu können, versuchten wir in Tab. 9 eine Synopse der Klassifizierungssysteme. Wir ordneten dabei die in den einzelnen Publikationen unterschiedlich benannten Fasertypen nach den von uns beschriebenen Unterscheidungsmerkmalen der Typ I- und Typ II-Fasern.

Da wir in unserem Typisierungsschema aus dargelegten Gründen die Schichtenzugehörigkeit einer Faser unberücksichtigt lassen mußten, blieb dieses Kriterium auch in der Darstellung der Klassifizierungsmodelle der anderen Autoren unerwähnt.

Tabelle 9

Gegenüberstellung der Fasertypenschematas einzelner Autoren nach der Darstellung der m-ATPase, gegliedert nach der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Klassifizierung in Typ I- und Typ II-Fasern.

Tabelle 9

Autor	Färbung		Färbeprofil mit Faserbezeichnung						
			Typ I	Typ II					
ASMUSSEN et al. (4)	ATPase	9,4	+	+++	+++	+++	+++	++	
			6	1	3	4	5	2	
DURSTON (12)	ATPase "	9,4 4,35	low high	high low		high low			
			fine	granular		coarse			
HANSON et al. (15)	ATPase "	9,4 4,35	0 +	++ 0	++ ++				
			I	II	IIC				
HARKER (16)	ATPase "	10,4 4,3	minimal dark	high low	intermediate low				
			G g'	A	c c'				
HOOGENRAAD et al. (21)	ATPase "	9,4 4,35	low high I	high low IIA	high low IIB	high low IIC			
JENNEKENS et al. (22)	ATPase	9,4	low I		high II				
RINGEL et al. (39)	ATPase "	9,4 4,2	moderate high fine	high low granular	high low coarse				
VITA et al. (43)	ATPase "	9,5 4,3	- ++++ 1	+++ - 2a	+++ - 2a'	+++ - 2a''	+ - 2b	+ ++ 2c	
YELLIN (47)	ATPase "	10,4 4,35	low high säure- stabil	moderate low alkali-stabil	high low alkali- stabil	high low alkali- + säure- stabil			

Die den Typ I-Fasern entsprechenden Fasern werden in den Abhandlungen einheitlich als Fasern mit der geringsten Aktivität im alkalischen und mit der höchsten Aktivität im sauren pH-Bereich definiert.

Bei DURSTON (12) und RINGEL et al. (39) werden sie von den "fine fiber" repräsentiert.

Erwähnenswert ist der Befund von HANSON et al. (15) und YELLIN (47), die Typ I-Fasern ausschließlich in der bulbären Schicht lokalisiert fanden.

Die in der HE-Färbung durch Eosinophilie gekennzeichnete Fasern stellen sich in der Enzymfärbung mit uneinheitlich großer Aktivität dar. Verhältnismäßig häufig finden wir sie bei pH 4,35 dunkel, also Typ I-artig. Sie würden dann den "fine fibers" von DURSTON (12) nahestehen, die ebenfalls eosinophil sind. ASMUSSEN et al. (4) dagegen berichten über eine entsprechende Faserart, die jedoch regelmäßig hohe Aktivitäten der ATPase 9,4 aufweist und somit Typ II-Fasern entspräche. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Beschreibungen nicht um die gleiche Faser, so daß aus diesen Angaben eine Beurteilung nicht möglich ist.

Im Widerspruch zum einheitlich dargestellten Färbeverhalten der Typ I-Fasern werden von den meisten Autoren

die Typ II-Fasern in Untergruppen gegliedert. Diese Unterteilung beruht jedoch nicht allein auf der ATPase-Darstellung, sondern resultiert aus weiteren, in unserer Gegenüberstellung nicht berücksichtigten Enzymdarstellungen (z.B. NADH, SDH, α -GPD).

In vorangegangenen ebenso wie in eigenen Untersuchungen zeigen die Typ II-Fasern bei der ATPase-Reaktion 9,4 bzw. 10,4 ein hohes, bei pH 4,3 spiegelbildlich dazu ein niedriges Aktivitätsniveau. Bei VITA et al. (43) weichen die "2b-Fasern" durch mäßige Anfärbung bei pH 9,4 von diesem Profil ab.

MARTINEZ et al. (30) sprechen von einem bei den EOM charakteristischerweise unvollständigen Spiegelbild in der histochemischen Faserdarstellung. Tatsächlich gibt es aber sowohl bei den EOM als auch bei den Extremitätenmuskeln Fasern, die ein von Typ I und Typ II abweichendes Färbeverhalten zeigen; wir bezeichnen sie als "Intermediärfasern" und setzen sie in Bezug zu den 2C-Fasern im Skelettmuskel.

Die Beurteilung dieser Intermediärfasern im Augenmuskel ist uneinheitlich. Während sie im Skelettmuskel eine eher untergeordnete Rolle spielen, wird ihnen in den EOM mehr Bedeutung beigemessen. Sie stellen nach Mei-

nung von HOOGENRAAD et al. (21) und HANSON et al. (15) mehr als die Hälfte aller Fasern und sind ausschließlich (43, 47) oder größtenteils (15, 21) in der peripheren Schicht anzutreffen.

Die Intermediärfasern färben sich sowohl im sauren als auch im alkalischen Milieu dunkel. Nach der Faserklassifizierung von YELLIN (47) entsprechen sie Fasern mit alkali- und säure-stabiler ATPase-Form, nach der von HANSON et al. (15) den "IIC-Fasern".

YELLIN findet diese Faserart ausschließlich im Muskelrandbereich, während sie bei HANSON et al. mit 20 % in der orbitalen und mit 10 % in der bulbären Schicht vertreten ist.

Eine Faserart mit intermediärem Färbeverhalten finden wir in den "2c-Fasern" von VITA et al. (43). Sie stehen mit ihrer geringen Aktivität in der ATPase 9,5-Reaktion und ihrer relativ hohen Aktivität bei pH 4,3 dem Färbeprofil der Typ I-Fasern nahe. VITA et al. (43) fanden sie nur in der Hälfte aller untersuchten Augenmuskeln bei Ratten.

Die "IIC-Fasern" von HOOGENRAAD et al. (21) weisen eine gegenüber dem Skelettmuskel geringere Aktivität bei

pH 4,3 auf und unterscheiden sich somit bei diesen Autoren nicht von den anderen Typ II-Fasern.

Eine entsprechende Faserart in der Nomenklatur HARKERS (16) weist bei pH 10,4 eine mittlere Aktivität auf und verhält sich bei pH 4,3 wie eine Typ II-Faser.

DURSTONS (12) "coarse-fibers" werden von HOOGENRAAD et al. (21) den "IIC-Fasern", von VITA et al. (43) den "2a-Fasern" zugeordnet.

So uneinheitlich die Darstellung dieser Faserart ausfällt, so unterschiedlich sind die Meinungen über ihre Bedeutung. YELLIN (47) postuliert für diesen Typ eine doppelte nervale Versorgung, die beide Formen der ATPase - die alkali-stabile und die säure-stabile ATPase - aktiviert. HANSON et al. (15) sehen in den "IIC-Fasern" eine Transformationsstufe bei der Umwandlung von Typ II- zu Typ I-Fasern als Ausdruck einer altersabhängigen Verlangsamung der physiologischen Funktionen des Auges.

5. Myometrische Analyse

Der Vergleich des Zahlenmaterials der quantitativen Auswertung der histochemischen Präparate muß unter Berücksichtigung der Art des verwendeten Augenmuskelmaterials, des Schnittniveaus und der myometrischen Meßmethode erfolgen.

5.1. Beurteilung der prozentualen Fasertypenverteilung

Ohne Berücksichtigung der Schichtenzugehörigkeit stellen sich in unseren Präparaten durchschnittlich 21,9 % (M.obl.inf.) bzw. 29,2 % (M.rect.int.) als Typ I-Fasern dar.

Die Werte der einzelnen Präparate schwankten dabei stark (13,9 % - 50,8 %). Sie lagen z.T. erheblich über denen von RINGEL et al. (39) (1,2 % - 12,3 %) und HOOGENRAAD et al. (21) (15 %) im menschlichen Augenmuskel. Entsprechende Angaben machten HANSON et al. (15) sowie ALVARADO und VAN HORN (3) mit 14 % bzw. 15 % Typ I-Fasern beim Katzenmuskel und VITA et al. (43) für den Rattenmuskel (1,2 % - 11,9 %).

Die Frage, ob zwischen den sechs EOM bezüglich der prozentualen Fasertypenverteilung Unterschiede bestehen, wird von YELLIN (47) bejaht; VITA et al. (43) dagegen

fanden im M.rect.sup., M.rect.int. und M.obl.sup. einheitliche Verteilungsbilder mit Ausnahme eines sehr geringen Typ I-Faseranteils im M.obl.sup. (1,2 % - 8,8 %).

Eine diesbezügliche Sonderstellung des M.obl.sup. fanden wir in der von uns untersuchten Biopsie nicht bestätigt. Jedoch fanden wir in diesem Muskel abweichend vom M.rect.int. und M.obl.inf. eine langgestreckte, flache Typ I-Faserverteilungskurve.

Die Variationen in der Typenverteilung zwischen den sechs EOM scheinen zufällig zu sein. Dieser Behauptung von RINGEL et al. (39) können wir uns, bezogen auf den M.rect.int. und M.obl.inf., anschließen. Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Muskelarten feststellen. Allerdings wurde das Signifikanzniveau nur sehr knapp verfehlt.

Bei der Prüfung eines möglichen Einflusses des Lebensalters auf die prozentuale Fasertypenverteilung in unserem Untersuchungsgut ließ sich vom 7-jährigen bis zum 82-jährigen keine einheitliche Tendenz in Richtung Zu- oder Abnahme der beiden Hauptfasergruppen feststellen. Dieselbe Beobachtung finden wir bei HANSON et al. (15) und RINGEL et al. (39) beschrieben.

Grundsätzlich kann man an den Augenmuskeln das zahlenmäßige Überwiegen der Typ II-Fasern beobachten (3, 21, 27, 30, 39, 43, 47). Da die Typ II-Fasern, wie wir zeigten, hohe ATPase-Aktivitäten besitzen, bedeutet dies funktionell betrachtet, daß die Mehrzahl der Muskelfasern zu raschen Kontraktionen befähigt ist, wie sie für rasche Blickänderungen nötig sind.

Andererseits könnte der etwas größere Anteil der Typ I-Fasern in den von uns untersuchten Schiellmuskeln Ausdruck für die eingeschränkte Motilität dieser Muskeln sein; denn die Typ I-Fasern gelten als Träger der langsamen Kontraktionskomponente. Da jedoch entsprechende Literaturhinweise fehlen, bedarf diese Hypothese noch eingehender Untersuchungen.

5.2. Beurteilung der Faserquerschnittsgrößen

Aus vorangegangenen Erläuterungen über die Faserarchitektur im EOM ist zu entnehmen, daß die Wahl der Schnittebene einen großen Einfluß auf die Fasergrößen ausübt. Darüber hinaus muß man beim Vergleich publizierter Werte die unterschiedlichen Meßmethoden berücksichtigen.

Soweit in den Abhandlungen angegeben, werden die Querschnitte mittels Okularmikrometer ermittelt (4, 5, 20)

oder planimetrische Verfahren praktiziert (15, 24, 28, 42).

Die Voraussetzung für genaue Meßergebnisse bei Flächenbestimmungsmethoden sind parallele Faserverläufe und exakt orthograd getroffene Fasern.

Beide Bedingungen sind im EOM nicht in idealer Weise erfüllt: Erstens muß man neben geraden Längsverläufen auch Faseraufzweigungen und -verbindungen berücksichtigen, zweitens lassen sich mehr oder weniger gehäufte Faserschrägschnitte nicht vermeiden.

Das von uns praktizierte Verfahren von DUBOWITZ und BROOKE (11) ist von diesen Störfaktoren weitgehend unabhängig.

Zudem erlaubt die Markierung der Faserquerschnitte auf photographischen Vergrößerungen gegenüber der Messung mittels Okularmikrometer unter dem Mikroskop eine genauere Festlegung der Durchmesserstrecken.

Alle Untersucher von Augenmuskeln betonen die Feinheit der Fasern - sie sind zwei- bis zehnfach kleiner als Skelettmuskelfasern - und die beachtliche Variationsbreite der Faserstärken.

Als Besonderheit weist der Augenmuskelquerschnitt in seiner Peripherie sehr dünne und zentralwärts dickere Fasern auf. In den meisten Publikationen werden daher die Faserdurchmesserangaben auf die Lage einer Faser in einer der beiden Zonen bezogen. Eine Typ I-Faser in der orbitalen Schicht ist kleiner als die gleichen Typs in der bulbären.

Bei den Faserquerschnittsbestimmungen in der vorliegenden Arbeit blieb die Schichtenzuteilung aus dargelegten Gründen unberücksichtigt.

Die Faserdurchmesser schwanken in unserem Untersuchungsgut zwischen 3 μm und 39 μm . Sie stimmen ungefähr mit den von anderen Autoren angegebenen Größenspannen überein. Bei HOOGENRAAD et al. lagen die Faserstärken zwischen 8 μm und 40 μm (21) bzw. 5 μm und 25 μm (20), bei RINGEL et al. (39) zwischen 10 μm und 38 μm . Dagegen ist die bei MARTINEZ et al. (30) angegebene Variationsbreite relativ klein (15 μm - 25 μm). MÜHLENDYCK (34) fand in der gesamten einschlägigen Literatur Faserquerschnittsangaben von 3 μm - 50 μm .

Zum Vergleich sollen die Größenordnungen der Muskelfasern einiger Tierspezies herangezogen werden. In den EOM der Vögel wurden Fasern von 7 μm - 26 μm (28), bei

der Maus (35) von 3 μm - 25 μm gefunden. Im Rattenmuskel schwankte die Faserdicke zwischen 5 μm - 40 μm (31) und 8 μm - 40 μm (47). Beim Kaninchen wurden Faserstärken von 10 μm - 40 μm gemessen (5) mit 5 μm - 20 μm dicken Fasern im orbitalen Bereich (9).

Diese Angaben demonstrieren die große Variabilität der Fasergrößen in den EOM; Mensch und Tier unterscheiden sich darin nicht wesentlich.

Der Einfluß des Schnittniveaus auf die Faserdurchmesser sei hier nochmals erwähnt. Während sich die Größenangaben anderer Autoren auf das mittlere Muskeldrittel beziehen, resultieren die von uns ermittelten Durchmesser aus dem distalen ansatznahen Muskelbereich. Nach VOSS (45) und MÜHLENDYCK (33) finden sich in diesem Abschnitt hauptsächlich kleinkalibrige Fasern. Deshalb liegen die Fasermittelwerte unter denen vergleichbarer Publikationen.

Die Typ I - Fasern waren in unserer Untersuchung durchschnittlich 10 μm - 16 μm groß im M.obl.inf. und 12 μm - 21 μm im M.rect.int.

RINGEL et al. (39) beschreiben für alle sechs EOM des Menschen 13 μm - 35 μm große "fine fibers". ASMUSSEN

et al. (4) ermittelten für Katzen und Kaninchen einen Querschnitt von 32 μm . ALVARADO und VAN HORN (3) fanden im M.obl.inf. der Katze durchschnittlich 23 μm große Fasern; entsprechende Werte für das Schaf liegen bei 13 μm - 32 μm (16). Die Typ I-Fasern von VITA et al. (43) im Rattenmuskel maßen 7 μm - 12 μm im M.obl.sup. und 9 μm - 18 μm im M.rect.int.

Die Durchschnittswerte der Typ II - Fasern variieren in unserer Untersuchung zwischen 10 μm - 15 μm im M.obl.inf. und 12 μm - 19 μm im M.rect.int. Sie liegen damit im unteren Bereich der bei RINGEL et al. (39) angegebenen Größenspanne von 13 μm - 38 μm .

In Tierspezies variierte die Größe der Typ II-Fasern zwischen 10 μm und 55 μm .

Tab. 10 zeigt eine Zusammenstellung der Autoren, der untersuchten Spezies und Augenmuskeln und der Durchmesserangaben für die Typ I- und Typ II-Fasern aufgelistet.

Tabelle 10

Autor	Spezies	Muskel	Durchmesser (µm)	
			Typ I	Typ II
ASMUSSEN et al. (5)	Kaninchen	6 EOM	20 - 40	10 - 55
HARKER (16)	Schaf	M.obl.inf.	13 - 32	15 - 29
YELLIN (47)	Ratte	6 EOM	8 - 35	8 - 40
VITA et al. (43)	Ratte	M.rect.int.	9 - 18	12 - 26
		M.obl.sup.	7 - 12	11 - 29
		M.rect.sup.	8 - 16	12 - 27
MAYR (31)	Ratte	6 EOM	5 - 25	10 - 40
ALVARADO et al. (3)	Katze	M.obl.inf.	23	12 - 30
RINGEL et al. (39)	Mensch	6 EOM	13 - 35	10 - 38
ARNDT	Mensch	M.obl.inf.	10 - 16	10 - 15
		M.rect.int.	12 - 21	12 - 19

HANSON et al. (15) beschrieben bei Katzen aufgrund planimetrischer Messungen einen signifikanten Unterschied zwischen den Fasergrößen von Typ I und Typ II, wonach die Typ II-Fasern die größeren Flächeninhalte besitzen. Diese Beobachtung konnten wir für den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Muskelabschnitt nicht bestätigen.

Ein Vergleich der Typ I- und Typ II-Faserwerte zeigt in unserer Untersuchung für den M.obl.inf. keine signifikanten Unterschiede.

Auch die von HOOGENRAAD et al. erstellten Histogramme des M.obl.inf. (Abb. 34a) lassen annähernd gleiche Größen für Typ I- und Typ II-Fasern vermuten.

ASMUSSEN et al. (4, 5) finden in ihren graphischen Darstellungen der Fasergruppen stark überlappende Größenverteilungskurven.

Dagegen beobachteten wir konträr zur obigen Feststellung von HANSON et al. im M.rect.int., dem Schielmuskel, daß die Typ I-Fasern signifikant größere Durchmesser aufweisen als die Typ II-Fasern. Ob zwischen diesem Befund und der Schielstellung des Auges ein Zusammenhang besteht, bedarf weiterer Untersuchung.

Bei MC NEER (27) findet man den Hinweis auf eine Fasergrößenzunahme im Schiellmuskel ohne Angabe, welcher Fasertyp betroffen ist. Er bezieht sich dabei auf eine Studie von MARTINEZ et al. (29), die das Auftreten einiger sehr großer Fasern und damit eine Zunahme der Variationsbreite der Fasergrößen im Schiellmuskel beschreiben.

Der Vergleich von Zahlenmaterial, das von verschiedenen Augenmuskeln stammt, bedarf der Erörterung der Frage, ob zwischen Recti und Obliqui Unterschiede bezüglich der Fasergrößen bestehen.

SCHUMACHER et al. (42) und KATO (24) fanden ohne Typenzuordnung im M.rect.int. kleinere Fasermittelwerte als im M.obl.inf.

In der vorliegenden Studie wurde zwar im M.rect.int. ein größerer mittlerer Typ I-Faserdurchmesser gefunden als im M.obl.inf., jedoch war dieser Unterschied in der statistischen Prüfung nicht signifikant. Die Typ II-Fasern beider Muskeln waren gleich groß.

VITA et al. (43) fanden beim Vergleich der Fasergrößen des M.obl.sup., M.rect.sup. und M.rect.int. bei Ratten auffallend kleinkalibrige Typ I-Fasern im M.obl.sup.

(7 - 12 μ m). In der einzigen von uns untersuchten Biopsie fanden wir dies nicht bestätigt.

Diesen beobachteten Größenunterschieden zwischen den EOM stehen die Arbeiten der Autoren gegenüber, die sämtliche Augenmuskeln untersuchten und für alle sechs EOM einheitliche Durchmesserangaben (4, 31, 39, 47).

Betrachtet man die unterschiedlichen Wirkungsweisen und die den Lebensbedingungen des Menschen angepaßten unterschiedlich starken Beanspruchungen der einzelnen EOM wären differierende Fasergrößen nicht verwunderlich. Es soll jedoch nochmals betont werden, daß in unserem Biopsiematerial weder für die Typ I- noch für die Typ II-Fasern signifikante Größenunterschiede zwischen dem M.rect.int. und dem M.obl.inf. gefunden wurden.

Aus myometrischen Analysen am Skelettmuskel ist bekannt, daß Muskelfasern männlicher Individuen größere Querschnittswerte aufweisen als die weiblicher. Wir unterzogen die Augenmuskeln einer diesbezüglichen Prüfung und fanden, wie SCHIEFFERDECKER (40), keine signifikanten geschlechtsspezifischen Faserstärkendifferenzen.

Da sich beim Extremitätenmuskel altersabhängige Fasergrößenveränderungen nachweisen lassen, soll auch für die Augenmuskulatur der Einfluß des Lebensalters erörtert werden.

HANSON et al. (15) verfolgten am Augenmuskel der Katze die postnatale Fasergrößenentwicklung bis ins Erwachsenenalter. Dabei wurde deutlich, daß sich die Typ I-Fasern ab dem fünften Lebensmonat nur noch geringfügig, die Typ II-Fasern dagegen mit zunehmendem Alter beachtlich vergrößern.

In der vorliegenden Studie wurden die Mm.rect.int. der Schielpatienten einer diesbezüglichen Prüfung unterzogen. Dabei wiesen die Typ I- und Typ II-Fasern unserer drei Probanden in der Altersgruppe bis zum 20. Lebensjahr im Mittel niedrigere Querschnittswerte auf als die Patienten in der Altersgruppe von 21 bis 45 Jahren. Obwohl man hieraus vermuten kann, daß analog zum Extremitätenmuskel auch die Fasern im Augenmuskel eine Kaliberzunahme vom Kindes- zum Erwachsenenalter erfahren, darf dieser Befund aufgrund der geringen Fallzahl nur als Hypothese gewertet werden, die noch eingehender Untersuchung bedarf.

Auf eine Verringerung der Durchmesser im höheren Lebensalter könnten die vergleichsweise kleinen Fasergrößen des M.obl.inf. unseres ältesten Patienten (82 Jahre) hinweisen. Auch MÜHLENDYCK (34) machte auf altersabhängige Fasergrößenveränderungen nach dem 60. Lebensjahr aufmerksam. Nach seiner Meinung treten zunehmend ausgesprochen dicke Fasern auf und es kommt, besonders im M.rect.int., zur Zunahme von dünnen Fasern.

Nach unseren Erfahrungen müssen bei der Beurteilung altersspezifischer Fasergrößenveränderungen kritische Maßstäbe angelegt werden. Dies beweist der Vergleich von Faserstärken gleichaltriger Patienten (Histogramm-Nr. 1 und 9 bzw. Nr. 19 und 20): Die erheblichen Größenmitteldifferenzen erhärten die Vermutung, daß sich aufgrund der erwähnten Durchmesservariabilität besonders im Ansatzbereich der Muskeln die Fasergrößenordnung in einem Bereich von wenigen Millimetern verändert und das Untersuchungsergebnis somit in hohem Maße von der Schnittebene abhängt.

Neben der "Variablen" Schnittniveau muß sich der Beurteiler von Augenmuskelhistogrammen aus dem histologischen Übersichtspräparat Aufschluß darüber verschaffen, ob und in welchem Umfang Anteile der peripheren Faserzone im Schnitt miterfaßt und mitgewertet wurden. Eine

diesbezügliche Auswirkung auf die Faserverteilungskurve veranschaulicht Abb. 21. Dieses Histogramm eines 7jährigen Patienten zeigt einen ungewöhnlich hohen Anteil kleinkalibriger Typ II-Fasern, was in diesem Beispiel auf die Miterfassung von orbitalen Muskelzonenanteilen zurückzuführen ist.

6. Klinische Relevanz der histochemischen Augenmuskel- diagnostik

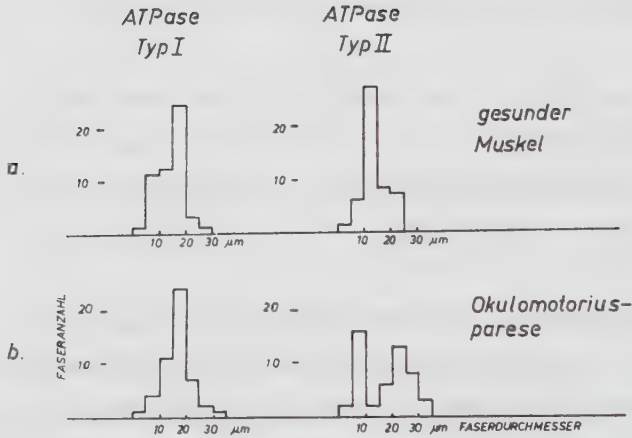
Bei einigen neuromuskulären Erkrankungen sind neben der Skelettmuskulatur auch die EOM mitbefallen. Oft wird eine Biopsie aus einem Extremitätenmuskel zur Diagnosestellung hilfreich sein.

Ist jedoch bei einem Patienten eine Augenmuskelschwäche der einzige Hinweis auf eine Muskelerkrankung, wird man u.a. eine Augenmuskelbiopsie in Erwägung ziehen. Sie kann bei der Frage nach dem neurogenen oder myogenen Ursprung einer Augenmuskelerkrankung einen entscheidenden Hinweis geben.

Um speziellen Krankheitsbildern charakteristische histologisch-histochemische Veränderungen zuordnen zu können, ist es zunächst erforderlich, Augenmuskeln von Patienten mit bekannter Diagnose zu analysieren.

Hier soll auf ein Fallbeispiel von HOOGENRAAD et al. (20) hingewiesen werden, die bei einem Jungen mit kongenitaler Okulomotoriusparese eine Biopsie aus dem M.obl.inf. untersuchten.

Eine Darstellung der ATPase-Aktivität machte Veränderungen in der Größenverteilung der Typ II-Fasern sichtbar (Abb. 34b), die als Atrophie der Typ II-Fasern gedeutet werden müssen.



nach HOOGENRAAD et al. (20)

Abb. 34 Histogramme der Typ I- und Typ II-Fasern aus dem M.obl.inf.

- a) Normale Kontrollhistogramme eines 4-jährigen
- b) Histogramme eines 6-jährigen mit kongenitaler Okulomotoriusparese: Zweigipfligkeit der Typ II-Faserverteilungskurve

Für die Einführung der Augenmuskelbiopsie in das klinische Diagnoseprogramm ist also eine klare Vorstellung über die normale Muskelmorphologie ebenso unerlässlich wie die Erfassung von sicheren pathologischen Zeichen als Merkmale bestimmter Erkrankungen. Die Histochemie ist imstande, dazu einen wertvollen Beitrag zu leisten. Ihr Einsatz in der Skelettmuskeldiagnostik bestätigt dies.

Wie vorliegende Arbeit zeigt, können jedoch Interpretationskriterien wie sie für den Skelettmuskel gelten nicht ohne weiteres für die EOM-Diagnostik übernommen werden. Als Beispiel dafür seien die geringen Faserdurchmesser und die große Variationsbreite der Fasergrößen erwähnt, die für den Skelettmuskel bereits pathologische Veränderungen im Sinne einer Atrophie anzeigen würden; für den Augenmuskel stellen sie ein nicht-pathologisches Charakteristikum dar.

In Korrelation zum Skelettmuskel müssen folglich auch neue Grenzwerte für Faseratrophie und -hypertrophie festgelegt werden.

Ansätze für die Erarbeitung neuer Beurteilungsrichtlinien für EOM-Biopsien wären

1. eine Standardisierung der Biopsieentnahme

Als Biopsiemuskel eignet sich nach HOOGENRAAD et al. (20, 21) besonders der M.obl.inf., der in seiner ganzen Länge muskulös und relativ einfach operativ zugänglich ist. Auch die Biopsieentnahmestelle innerhalb des Muskels muß festgelegt werden; denn für die myometrische Auswertung ist es unerlässlich zu wissen, ob eine Muskelprobe aus dem peripheren oder zentralen Muskelbereich entnommen wurde. Eine weitere wichtige Voraussetzung für den Vergleich der erhaltenen Werte ist - wie wir näher darlegten - eine einheitliche Definierung der Schnittebene.

2. eine Standardisierung der histochemischen Färbemethoden

Die Fasertypen sollen mit wenigen Färbungen eindeutig den beiden Hauptgruppen zugeordnet werden können. Die Darstellungen der reziproken ATPase-Aktivitäten bei pH 9,4 und pH 4,3 bieten eine Möglichkeit.

3. eine Standardisierung der myometrischen Analyse

Wie wir im theoretischen Teil unserer Abhandlung über Meßmethoden darlegten, können planimetrisch durchgeführte Fasergrößenbestimmungen Fehlerquellen enthalten, die mit dem von uns praktizierten Verfahren (11) weitgehend ausgeschlossen werden können.

4. eine Standardisierung der Einteilungskriterien für die Typenklassifizierung

Da eine subtile Fasertypengliederung mehr von wissenschaftlichem Interesse als im Sinne der klinischen Praxis ist, wäre ein auf wenige Typen beschränktes Nomenklatursystem zu befürworten wie es für die Diagnostik am Extremitätenmuskel in die Klinik eingeführt wurde.

Einen möglichen Weg aus dem "Dschungel der Fasertypen" zurück zur Konzentrierung auf die Hauptfasergruppen wollten wir mit der vorliegenden Arbeit aufzeigen.

V. Zusammenfassung

An der äußeren Augenmuskulatur des Menschen wurden mit Hilfe histochemischer und -metrischer Methoden, wie sie für die Skelettmuskelbiopsien eingesetzt werden, die Fasertypen anhand ihrer Enzymausstattungen differenziert und nach ihren Durchmessergrößen klassiert.

Das Untersuchungsmaterial bildeten 12 Excisionsstücken aus Mm.rect.int. von Schielpatienten, 4 Muskelproben aus Mm.obl.inf. und eine aus dem M.obl.sup. von Patienten mit Enukeleationsindikationen.

Das histologische Bild eines Augenmuskelquerschnitts zeigte sehr dünne runde Fasern mit beachtlicher Kalibervariation angeordnet in zwei Schichten, der bulbären und der orbitalen. In dem von uns untersuchten distalen Muskelabschnitt fand sich dieser zonale Aufbau jedoch nur in wenigen Proben.

Zur Charakterisierung der verschiedenen Fasertypen wurde die histochemische Reaktion für die myofibrilläre ATPase und die pH-Empfindlichkeit dieser Reaktion herangezogen.

Durchschnittlich 29 % der Fasern der Mm.rect.int., 22 % der Mm.obl.inf. und 15 % der des M.obl.sup. zeigten bei pH 9,4 bzw. 10,4 eine mäßige bzw. niedrige Enzymaktivität, bei pH 4,35 dagegen eine hohe. Dieses Färbeprofil kennzeichnete sie als Typ I-Fasern.

Die Mehrzahl der Fasern (71 % in den Mm.rect.int., 78 % in den Mm.obl.inf. und 85 % im M.obl.sup.) stellten sich im alkalischen Milieu dunkel, im sauren Medium hell dar und bildeten die Gruppe der Typ II-Fasern.

Abweichend von diesem reziproken Färbeverhalten stellten sich Intermediärfasern dar.

Die Unterschiede in der prozentualen Faserverteilung zwischen M.rect.int. und M.obl.inf. waren statistisch nicht signifikant (t-Test, $p < 0,05$, zweiseitige Betrachtung).

Die Faserdurchmesseranalyse, der ein Meßprinzip von DUBOWITZ und BROOKE zugrunde lag, ergab für die Typ I-Fasern mittlere Fasergrößen von 15 μm (M.rect.int.), 12 μm (M.obl.inf.) und 16 μm (M.obl.sup.). Die Typ II-Fasern waren im Mittel 14 μm (M.rect.int.), 13 μm (M.obl.inf.) und 15 μm (M.obl.sup.) groß.

Dabei differierten die Typ I- bzw. die Typ II-Fasergrößen der Mm.rect.int. und Mm.obl.inf. nicht signifikant.

Im M.rect.int. fanden wir die Typ I-Fasern signifikant größer als die Typ II-Fasern desselben Muskels ($p < 0,05$). Auf einen möglichen Zusammenhang zwischen diesem Befund und der Schielstellung des Auges wurde hingewiesen. Im M.obl.inf. hatten Typ I- und Typ II-Fasern die gleiche Größe.

Ferner untersuchten wir den Einfluß des Alters und des Geschlechts auf den Faserquerschnitt. Daraus ließ sich vermuten, daß die Augenmuskelfasern mit steigendem Lebensalter eine Kaliberzunahme erfahren. Geschlechtsspezifische Fasergrößendifferenzen konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Auswirkung der Faserarchitektonik im Augenmuskel und die Bedeutung der Schnittebene auf die myometrische Auswertung von Biopsien wurden erläutert.

Die histochemisch-myometrischen Untersuchungsbefunde erhoben am gesunden Augenmuskel sind wesentliche Voraussetzungen für die Erarbeitung von Beurteilungsmaßstäben für pathologisch veränderte Augenmuskeln.

VI. Literatur

1. AICHMAIR H., MAYR R.:

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der
Mitochondrien von Schiellmuskeln
Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp.
Ophthal. 186: 45 - 54 (1973)

2. AICHMAIR H.:

Zum histochemischen Fermentnachweis in den
äußeren Augenmuskeln
Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp.
Ophthal. 177: 152 - 156 (1969)

3. ALVARADO J.A., VAN HORN C.:

Muscle cell types of the cat inferior oblique.
In: Basic mechanisms of ocular motility and
their clinical implications
Hrsg.: Lennerstrand G., Bach-y-Rita P.
Pergamon Press, Oxford 1975: 15 - 43

4. ASMUSSEN G., KIESSLING A., WOHLRAB F.:

Histochemische Charakterisierung der verschiede-
nen Muskelfasertypen in den äußeren Augen-
muskeln von Säugetieren
Acta anat. 79: 526 - 545 (1971)

5. ASMUSSEN G., KIESSLING A.:

Hypertrophy and atrophy of mammalian extra-ocular muscle fibres following denervation
Experientia 31: 1186 - 1188 (1975)

6. BRANDT D.E., LEESON C.R.:

Structural differences of fast and slow fibers
in human extraocular muscle
Amer. J. Ophthal. 62: 478 - 487 (1966)

7. BREININ G.M.:

The structure and function of extraocular
muscle - an appraisal of the duality concept
Amer. J. Ophthal. 72: 1 - 9 (1971)

8. BROOKE M.H., KAISER K.K.:

Muscle fiber types: How many and what kind?
Arch. Neurol. 23: 369 - 379 (1970)

9. DAVIDOWITZ J., PHILIPS G., BREININ G.M.:

Organization of the orbital surface layer in
rabbit superior rectus
Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 16/8: 711 - 729
(1977)

10. DRACHMAN D.A., WETZEL N., WASSERMAN M., NAITO H.:

Experimental denervation of ocular muscles
Arch. Neurol. 21: 170 - 183 (1969)

11. DUBOWITZ V., BROOKE M.H.:

Muscle biopsy: a modern approach
Saunders Comp. Ltd. London Philadelphia
Toronto (1973)

12. DURSTON J.H.J.:

Histochemistry of primate extraocular muscles
and the changes of denervation
Brit. J. Ophthal. 58: 193 - 216 (1974)

13. GUTH L., SAMAHA F.J.:

Qualitative differences between actomyosin
ATPase of slow and fast mammalian muscle
Experimental Neurology 25: 138 - 152 (1969)

14. HALBAN J. zit. nach KATO T.

15. HANSON J., LENNERSTRAND G., NICHOLS K.C.:

The postnatal development of the inferior
oblique muscle of the cat
III. Fiber sizes and histochemical properties
Acta Physiol. Scand. 108: 61 - 71 (1980)

16. HARKER D.W.:

The structure and innervation of sheep
superior rectus and levator palpebrae extra-
ocular muscles
I. Extrafusal muscle fibers
Invest. Ophthalm. 11: 956 - 969 (1972)

17. HELVESTON E.M.:

Atlas of strabismus surgery
C.V. Mosby Company, St. Louis (1977)

18. HESS A.:

The structure of slow and fast extrafusal
muscle fibers in the extraocular muscles
and their nerve endings in guinea pigs
J. cell. comp. Physiol. 58: 63 - 80 (1961)

19. HESS A., PILAR G.:

Slow fibres in the extraocular muscles of
the cat
J. Physiol. (Lond.) 169: 780 - 798 (1963)

20. HOOGENRAAD T.U., JENNEKENS F.G.I., TAN K.E.W.P.:

Histochemistry of inferior oblique muscle in a
case of congenital third nerve palsy
Documenta Ophthalm. 44,1 : 187 - 192 (1977)

21. HOOGENRAAD T.Z., JENNEKENS F.G.I., TAN K.E.W.P.:

Histochemical fibre types in human extraocular muscles, an investigation of inferior oblique muscle
Acta Neuropathol. (Berl.) 45: 73 - 78 (1979)

22. JENNEKENS F.G.I., TAN K.E.W.P., HOOGENRAAD T.U.:

Enzyme-histochemistry of normal external ocular muscles
Ophthalmologica 173: 326 - 327 (1976)

23. JERUSALEM F.:

Muskelerkrankungen - Klinik, Therapie, Pathologie
Thieme-Verlag (1979)

24. KATO T.:

Über histologische Untersuchungen der Augenmuskeln von Menschen und Säugetieren
Folia Anat. Japon. 16: 131 - 145 (1938)

25. KRÜGER P.: zit. nach BRANDT D.E., LEESON C.R.

26. LOJDA Z.:

Enzymhistochemische Methoden
Springer-Verlag (1976)

27. MC NEER K.W.:

Histopathology of extraocular muscles in strabismus

In: Symposium on strabismus; New Orleans Academy of Ophthalmology: 80 - 90 (1978)

28. MAIER A., ELDRED E., EDGERTON R.:

Types of muscle fibers in the extraocular muscles of birds

Exp. Eye Res. 13: 255 - 265 (1972)

29. MARTINEZ A.J., HAY S., MC NEER K.W.:

Extraocular muscles, light microscopy and ultrastructural features

Acta Neuropathol. 34: 237 - 253 (1976)

30. MARTINEZ A.J., BIGLAN A.W., HILES D.A.:

Structural features of extraocular muscles of children with strabismus

Arch. Ophthalmol. 98: 533 - 539 (1980)

31. MAYR R.:

Structure and distribution of fibre types in the external eye muscles of the rat

Tissue and Cell 3: 433 - 462 (1971)

32. MAYR R., GOTTSCHALL J., GRUBER H., NEUHUBER W.:

Internal structure of cat extraocular muscle
Anat. Embryol. 148: 25 - 34 (1975)

33. MÜHLENDYCK H.:

Histologische Untersuchungen über die Länge
der Muskelfasern in den äußeren Augenmuskeln
des Menschen
Verh. dtsch. ophthal. Ges. 73: 295 - 298 (1973)

34. MÜHLENDYCK H.:

Ringbinden- und Serpentinfasern in den
äußeren Augenmuskeln des Menschen
Normale und Pathologische Anatomie Bd. 39
Thieme-Verlag (1980)

35. PACHTER B.R., DAVIDOWITZ J., BREININ G.W.:

Light and electron microscopic serial analysis
of mouse extraocular muscle: morphology, inner-
vation and topographical organization of com-
ponent fiber populations
Tissue and Cell 8: 547 - 560 (1976)

36. PADYKULA H.A., HERMAN E.:

Factors affecting the activity of adenosine
triphosphatase and other phosphatases as measured
by histochemical techniques
J. Histochem. Cytochem. 3: 161 - 169 (1955)

37. PADYKULA H.A., HERMAN E.:

The specificity of the histochemical method for
adenosine triphosphatase
J. Histochem. Cytochem. 3: 170 - 183 (1955)

38. PEACHEY L.:

The structure of the extraocular muscle
fibers of mammals.
In: The control of eye movements.
Hrsg. Bach-y-Rita P., Collins C.C.
Academic Press New York, London (1971)

39. RINGEL S.P., WILSON W.B., BARDEN M.T., KAISER K.K.:

Histochemistry of human extraocular muscle
Arch. Ophthal. 96: 1067 - 1072 (1978)

40. SCHIEFFERDECKER P. zit. nach SCHUHMACHER G.H.,
FANGHÄNEL J., BRINCKMANN W.

41. SCHNELLER J. zit. nach KATO T.

42. SCHUMACHER G.H., FANGHÄNEL J., BRINCKMANN W.:

Vergleichende Faserquerschnittsuntersuchungen
an den äußeren Augenmuskeln
Anat. Anz. Bd. 130: 241 - 250 (1972)

43. VITA G.F., MASTAGLIA F.L., JOHNSON M.A.:

A histochemical study of fibre types in rat extraocular muscles
Neuropath. and Appl. Neurobiol. 6: 449 - 463 (1980)

44. VOLKMANN A.W., KRAUSE zit. nach KATO T.

45. VOSS H.:

Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Augenmuskeln des Menschen
(Faserdicke, Muskelspindeln, Ringbinden)
Anat. Anz. 104: 345 - 355 (1957)

46. WOOLLARD H.H. zit. nach KATO T.

47. YELLIN H.:

Unique intrafusal and extraocular muscle fibers exhibiting dual actomyosin ATPase activity
Experimental Neurology 25: 153 - 163 (1969)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Oberarzt Dr. med. Th.N. Witt sowohl für die freundliche Überlassung des Themas als auch für die wissenschaftlichen Anregungen und die stets freundliche Beratung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit meinen herzlichen Dank aussprechen.

Hilfreiche Unterstützung bei der Beschaffung des Augenmuskelmateri als erfuhr ich durch Herrn Prof. Dr. med. Stefani und Herrn Prof. Dr. med. Boergen von der Universitätsaugenklinik München.

Fräulein Anneser gilt für ihre Einführung in die labor-technischen Methoden der Muskeldiagnostik und ihre Hilfe bei der Materialaufbereitung mein besonderer Dank und meine Anerkennung.

Meiner Mutter gebührt für die Reinschrift dieser Arbeit herzlicher Dank.

Lebenslauf

Am 02. Mai 1955 wurde ich als Tochter des Oberlehrers Helmut Arndt und seiner Frau Maria, geb. Lochner, in München geboren.

Von 1961 bis 1967 besuchte ich die Volksschule in München-Riem. 1967 trat ich in das Pestalozzi-Gymnasium (Musisches Gymnasium) München über, wo ich im Juni 1974 das Zeugnis der Reife erwarb.

Im Anschluß daran studierte ich von 1974 bis 1980 an der Ludwig-Maximilians-Universität München Medizin. Vom April 1980 bis März 1981 arbeitete ich im Rahmen des Praktischen Jahres am Städtischen Krankenhaus Landshut in der Abteilung für Innere Medizin, am Städtischen Krankenhaus München-Schwabing in der Chirurgischen Abteilung und in der Augenklinik der Universität München.

Das Studium schloß ich im November 1981 mit der Ärztlichen Prüfung ab und erhielt im Dezember 1981 die Approbation.

Im Anschluß an die Ausbildung arbeitete ich an meiner Dissertation in der Neurologischen Abteilung des Klinikums Großhadern.

Seit April 1983 bin ich als Stabsärztin am Flugmedizinischen Institut der Luftwaffe Fürstenfeldbruck im Fachbereich "Augen" tätig.

